



**ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA DE CHIMBORAZO**

**FACULTAD DE CIENCIAS**

**ESCUELA DE BIOQUÍMICA Y FARMACIA**

**“EVALUACIÓN DEL EFECTO ANSIOLÍTICO DEL EXTRACTO  
HIDROALCOHÓLICO DE FLOR DE BADEA (*Passiflora  
quadrangularis*) EN RATONES (*Mus musculus*)”**

**TESIS DE GRADO**

**PREVIA LA OBTENCIÓN DEL TÍTULO DE**

**BIOQUÍMICO FARMACEÚTICO**

**PRESENTADO POR**

**VIVIANA ELIZABETH REA LARA**

**RIOBAMBA – ECUADOR**

**2014**

## **DEDICATORIA**

*Este trabajo de tesis quiero dedicar a las personas más importantes en mi vida.*

*A mis padres Carlos y Mercedes por su inmenso amor, apoyo, y ejemplo que han sabido ser, para enseñarme que en la vida el esfuerzo, dedicación, perseverancia y primordialmente los valores deben ser aplicados en cada meta trazada para cumplirlo con éxito.*

*A mis hermanos Alex y Jenny que a pesar de todos los altibajos que hemos vivido han estado conmigo en momentos de alegría y tristeza como amigos y confidentes.*

*A mis abuelitos Francisco y Piedad porque su amor, confianza y bendición diaria siempre me han motivado para seguir adelante.*

*A mis tíos porque son mi ejemplo a seguir por su espíritu luchador y de superación, además del apoyo y los sabios consejos que han sabido brindarme en el transcurso de mi vida.*

*Y a mis primos por ser como mis hermanos.*

*En todos ellos encontré las fuerzas necesarias para hacer de este sueño una realidad.*

## **AGRADECIMIENTO**

*Para Dios es el mayor de mis agradecimientos por darme la vida, la salud y permitirme llegar al final de esta etapa profesional. Definitivamente su bendición es el camino para cumplir exitosamente cualquier objetivo propuesto porque sin él nada es posible.*

*A la Escuela Superior Politécnica de Chimborazo, por ser la Institución que cristalizó mis ideales como profesional.*

*A mis queridos Profesores por brindarme sus conocimientos en esta trayectoria y así poder desarrollarme profesionalmente con ética y responsabilidad.*

*A la Dra. Susana Abdo (Directora) por guiarme con sus sabios conocimientos en la elaboración de la presente tesis.*

*Al BQF. Germán Toapanta (Miembro) por su constante apoyo, sin sus orientaciones y sugerencias, este trabajo de investigación no hubiera sido posible.*

*Un inmenso agradecimiento a mis amigos, que gracias a ellos he vivido experiencias las cuales han hecho que esta etapa de mi vida sea inolvidable.*

*Y a todas las personas que me brindaron generosamente su colaboración para la culminación de este trabajo de investigación.*

**ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA DE CHIMBORAZO**  
**FACULTAD DE CIENCIAS**  
**ESCUELA DE BIOQUÍMICA Y FARMACIA**

El Tribunal de Tesis certifica que: El trabajo de investigación: **“EVALUACIÓN DEL EFECTO ANSIOLÍTICO DEL EXTRACTO HIDROALCOHÓLICO DE FLOR DE BADEA (*Passiflora quadrangularis*) EN RATONES (*Mus musculus*)”**, de responsabilidad de la señorita egresada Viviana Elizabeth Rea Lara, ha sido prolijamente revisado por los Miembros del Tribunal de Tesis, quedando autorizada su presentación.

FIRMA

FECHA

Ing. César Ávalos.  
**DECANO FAC. CIENCIAS.**

\_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

Dra. Ana Albuja  
**DIRECTORA ESCUELA**  
**BIOQUÍMICA Y FARMACIA**

\_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

Dra. Susana Abdo  
**DIRECTORA DE TESIS**

\_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

BQF. German Toapanta  
**MIEMBRO DE TRIBUNAL**

\_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

BQF. Fausto Contero  
**MIEMBRO DE TRIBUNAL**

\_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

**COORDINADOR ENCARGADO**  
**DEL SISTEMA DE BIBLIOTECA**

\_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

**NOTA DE TESIS ESCRITA**

\_\_\_\_\_

Yo, **Viviana Elizabeth Rea Lara**, soy responsable de las ideas, doctrinas y resultados expuestos en esta Tesis; y el patrimonio intelectual de la Tesis de Grado, pertenece a la  
ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA DE  
CHIMBORAZO

---

VIVIANA ELIZABETH REA LARA

## ÍNDICE DE ABREVIATURAS

%H	Porcentaje de Humedad
®	Marca Registrada
µL	Microlitros
5HT	5-hidroindolacético
AA	Aminoácidos
Acetil-Co A	Acetil-Coenzima A
ACh	Acetilcolina
Adm.	Administración
ANOVA	Análisis de varianza
AS	Aseo
BZ	Benzodiacepinas
CC	Cuadro Central
CCK	Colesistoquinina
cm	Centímetros
DE	Dosis efectiva
DEA	Deambulaci3n
DEF	Defecaci3n
ESPOCH	Escuela Superior Polit3cnica de Chimborazo
Ex.	Extracto
FDA	Administraci3n de Drogas y Alimentos
FE	Fecha de elaboraci3n
FV	Fecha de vencimiento
g	Gramos
GABA	Ácido Gamma Amino Butírico
h	Horas
INC	Incorporaciones
i.p	Intraperitoneal
Kg	Kilogramo
L	Litro
LEC	Líneas cruzadas en el espacio claro
LEO	Líneas cruzadas en el espacio oscuro
M	Molar
mg	Miligramos
MIC	Micci3n
min	Minutos

ml	Mililitros
mm	Milímetros
MSP	Ministerio de Salud Pública
NEFT	Norma Ecuatoriana de Fitoterápicos
nm	Nanómetro
NT	Número de Transiciones
°C	Grados Celcius
OMS	Organización mundial de la Salud
OPS	Organización Panamericana de la Salud
pH	Potencial de hidrógeno
ppm	Partes por millón
Rf	Franja de referencia
Rs	Reducir, Remplazar y Refinar
seg	Segundos
SNA	Sistema Nervioso Autónomo
SNS	Sistema Nervioso Somático
TA	Trastornos de Ansiedad
TAG	Trastorno de Ansiedad Generalizada
TEC	Tiempo en el espacio claro
TOC	Trastorno Obsesivo - Compulsivo
TP	Trastorno del Pánico
UV	UV
V.O	Vía oral

## ÍNDICE GENERAL

ÍNDICE DE ABREVIATURAS

ÍNDICE DE TABLAS

ÍNDICE DE CUADROS

ÍNDICE DE GRÁFICOS

ÍNDICE DE FIGURAS

ÍNDICE DE ANEXOS

RESUMEN

INTRODUCCIÓN

<b>1.</b>	<b>MARCO TEÓRICO.....</b>	<b>1</b>
1.1	GENERALIDADES DE LA ANSIEDAD.....	1
1.2	ANSIEDAD.....	1
1.2.1	CAUSAS.....	3
1.2.2	DIAGNÓSTICO.....	4
1.2.3	SÍNTOMAS.....	5
1.2.4	TRASTORNOS DE LA ANSIEDAD.....	6
1.2.4.1	Agorafobia.....	7
1.2.4.2	Fobia social .....	7
1.2.4.3	Fobia específica.....	8
1.2.4.4	Trastorno de ansiedad generalizada (TAG).....	8
1.2.4.5	Trastorno estrés postraumático.....	9
1.2.4.6	Trastorno del pánico (TP) o trastorno de angustia.....	9
1.2.4.7	Trastorno obsesivo – compulsivo (TOC).....	9
1.2.5	FISIOLOGÍA DE LA ANSIEDAD .....	10
1.2.6	NEUROQUÍMICA DE LA ANSIEDAD .....	13
1.2.6.1	Sinapsis neuronal.....	13
1.2.6.2	Neurotransmisores de la ansiedad.....	14
1.3	FITOTERAPIA.....	17
1.3.1	Principios activos de plantas medicinales.....	18
1.4	FAMILIA <i>Passiflora</i> .....	19
1.4.1	Consideraciones de seguridad.....	22
1.4.2	Poblaciones especiales.....	23
1.4.3	Componentes bioactivos.....	23
1.4.3.1	Crisina: C <sub>15</sub> H <sub>10</sub> O <sub>4</sub> (5,7 dihidroxiflavona).....	24



1.4.3.2	Alcaloides tipo harmano.....	24
1.4.3.3	Glicósidos.....	25
1.4.3.4	Otros compuestos orgánicos.....	26
1.5	BADEA ( <i>passiflora quadrangularis</i> ).....	27
1.5.1	División taxonómica.....	27
1.5.2	Origen y distribución.....	28
1.5.3	Características botánicas.....	28
1.5.4	Composición química.....	30
1.5.5	Propiedades terapéuticas.....	30
1.5.6	Compuestos terapéuticos.....	31
1.6	ZOPICLONA.....	31
1.6.1	Mecanismo de acción.....	32
1.6.2	Farmacocinética.....	33
1.6.3	Contraindicaciones.....	34
1.6.4	Efectos secundarios.....	34
1.7	<i>Passiflora incarnata</i> .....	35
1.7.1	Componentes principales.....	35
1.7.2	Indicaciones.....	36
1.7.3	Posología.....	36
1.7.4	Advertencias.....	36
1.7.5	Interacciones.....	37
1.7.6	Efectos secundarios.....	37
1.8	IMPORTANCIA DE LA EXPERIMENTACIÓN ANIMAL.....	37
1.8.1	NORMAS ÉTICAS EN EL MANEJO DE LOS ANIMALES.....	37
1.9	RATÓN DE LABORATORIO ( <i>Mus musculus</i> ).....	38
1.9.1	Taxonomía.....	39
1.9.2	Características generales del ratón.....	39
1.9.3	Comportamiento del ratón.....	40
1.9.4	Pruebas para evaluar la actividad ansiolítica en ratones.....	40
1.9.4.1	Pruebas condicionas y no condicionadas.....	41
<b>2.</b>	<b>PARTE EXPERIMENTAL.....</b>	<b>42</b>
2.1	Lugar de la investigación.....	42
2.2	Materiales, Equipos y Reactivos.....	42
2.2.1	Material Vegetal.....	42
2.2.2	Materiales de laboratorio.....	42
2.2.3	Equipos.....	43

2.2.4	Reactivos.....	43
2.3	Materiales y reactivos para evaluación de actividad ansiolítica (ensayo preclínico).....	44
2.3.1	Materiales.....	44
2.3.2	Reactivo Biológico.....	44
2.3.3	Reactivos.....	45
2.4	TÉCNICAS Y MÉTODOS.....	46
2.4.1	CONTROL DE CALIDAD DE LA PLANTA SECA.....	46
2.4.1.1	Determinación de humedad.....	46
2.4.1.2	Determinación de cenizas.....	46
2.5	TAMIZAJE FITOQUÍMICO.....	47
2.6	OBTENCIÓN DEL EXTRACTO.....	48
2.6.1.1	Secado.....	49
2.6.1.2	Molienda.....	50
2.6.1.3	Proceso de extracción: Maceración.....	50
2.6.1.4	Control de calidad del extracto fluido.....	51
2.6.1.5	Concentración del extracto.....	51
2.6.1.6	Preparación de Tratamientos.....	52
2.7	CROMATOGRAFÍA EN CAPA FINA.....	54
2.8	CUANTIFICACIÓN DE PRINCIPIOS ACTIVOS.....	54
2.9	ACTIVIDAD ANSIOLÍTICA DEL EXTRACTO DE FLORES DE BADEA.....	55
2.9.1	PROTOCOLO FARMACOLÓGICO.....	55
2.9.1.1	Aclimatación.....	56
2.9.1.2	Técnica.....	56
2.9.1.3	Bioensayo.....	57
2.9.1.4	Evaluación.....	58
2.9.1.5	Análisis estadístico.....	58
2.10	DESCRIPCIÓN METODOLÓGICA DE LA EVALUACIÓN DE LA ACTIVIDAD ANSIOLÍTICA.....	59
2.11	ENSAYOS NEUROFARMACOLÓGICOS.....	60
2.11.1	PRUEBA DEL ALAMBRE.....	60
2.11.2	PRUEBA DEL ENTERRAMIENTO DE CANICAS.....	60
2.11.3	PRUEBA LABERINTO ELEVADO CERO.....	62
2.11.4	PRUEBA DE LA CAJA LUZ – OSCURIDAD.....	64
2.11.5	PRUEBA DEL CAMPO ABIERTO.....	65

<b>3.</b>	<b>RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....</b>	<b>68</b>
3.1	CONTROL DE CALIDAD DE LA MATERIA PRIMA.....	68
3.2	CONTROL DE CALIDAD DEL EXTRACTO HIDROALCOHÓLICO (EXTRACTO FLUIDO).....	69
3.2.1	DETERMINACIÓN DE PARÁMETROS ORGANOLÉPTICOS...	69
3.2.2	DETERMINACIÓN DE LOS PARÁMETROS FÍSICO – QUÍMICOS.....	69
3.3	TAMIZAJE FITOQUÍMICO.....	72
3.4	CROMATOGRAFÍA EN CAPA FINA.....	72
3.5	CUANTIFICACIÓN DE PRINCIPIOS ACTIVOS.....	74
3.5.1	CUANTIFICACIÓN DE ALCALOIDES TOTALES EXPRESADOS COMO PORCENTAJE DE HARMANO.....	74
3.5.2	CUANTIFICACIÓN DE FLAVONOIDES TOTALES EXPRESADOS COMO PORCENTAJE DE RUTINA.....	75
3.6	ANÁLISIS ESTADÍSTICO DE LOS ENSAYOS NEURAFARMACOLOGICOS.....	76
3.6.1	PRUEBA DEL ALAMBRE.....	76
3.6.2	PRUEBA DEL ENTERRAMIENTO DE CANICAS.....	79
3.6.3	PRUEBA DEL LABERINTO ELEVADO CERO.....	81
3.6.4	PRUEBA DE LA CAJA LUZ – OSCURIDAD.....	84
3.6.4.1	Tiempo en el espacio claro.....	84
3.6.4.2	Número de Transiciones.....	86
3.6.4.3	Líneas cruzadas en el espacio claro.....	88
3.6.4.4	Líneas cruzadas en el espacio oscuro.....	90
3.6.5	PRUEBA DEL CAMPO ABIERTO.....	93
3.6.5.1	Número de cruces por el cuadro central.....	93
3.6.5.2	Deambulación.....	95
3.6.5.3	Incorporaciones.....	97
3.6.5.4	Aseo.....	99
3.6.5.5	Micción.....	101
3.6.5.6	Defecación.....	103
3.7	DISCUSIÓN GENERAL DE RESULTADOS DE TODOS LOS ENSAYOS NEUROFARMACOLÓGICOS.....	105
	<b>CONCLUSIONES.....</b>	<b>107</b>
	<b>RECOMENDACIONES.....</b>	<b>109</b>
	<b>BIBLIOGRAFÍA.....</b>	<b>110</b>
	<b>ANEXOS.....</b>	<b>121</b>

## ÍNDICE DE CUADROS

CUADRO No. 1	Control de calidad de la droga seca de la flor de badea ( <i>Passiflora quadrangularis</i> ).....	68
CUADRO No. 2	Determinación organoléptica del extracto hidroalcohólico (extracto fluido) de las flores de badea ( <i>Passiflora quadrangularis</i> ).....	69
CUADRO No. 3	Determinación de los parámetros físico – químicos del extracto hidroalcohólico (extracto fluido) de las flores de badea ( <i>Passiflora quadrangularis</i> ).....	69
CUADRO No. 4	Tamizaje fitoquímico de los extractos etéreo, alcohólico y acuoso de las flores de badea ( <i>Passiflora quadrangularis</i> ).....	70
CUADRO No. 5	Análisis cromatográfico para alcaloides mediante la medición de Rf del extracto de las flores de badea ( <i>Passiflora quadrangularis</i> ).....	72
CUADRO No. 6	Análisis cromatográfico para flavonoides mediante la medición de Rf del extracto de las flores de badea ( <i>Passiflora quadrangularis</i> ).....	73
CUADRO No. 7	Cuantificación de alcaloides por espectrofotometría del extracto hidroalcohólico de las flores de badea ( <i>Passiflora quadrangularis</i> ) utilizando datos bibliográficos como referencia.....	74
CUADRO No. 8	Cuantificación de flavonoides por espectrofotometría del extracto hidroalcohólico de las flores de badea ( <i>Passiflora quadrangularis</i> ) utilizando rutina como estándar.....	75
CUADRO No. 9	Resultados del análisis estadístico de la prueba del alambre.....	76
CUADRO No. 10	Test anova para prueba del alambre.....	77
CUADRO No. 11	Análisis estadístico de la prueba del enterramiento de canicas...	79
CUADRO No. 12	Test anova para prueba del enterramiento de canicas.....	80
CUADRO No. 13	Análisis estadístico de la prueba del laberinto elevado cero.....	81
CUADRO No. 14	Test anova para prueba del laberinto elevado cero.....	82
CUADRO No. 15	Análisis estadístico del tiempo en el espacio claro de la caja luz-oscuridad.....	84
CUADRO No. 16	Test anova para el tiempo en el espacio claro de la caja luz-oscuridad.....	85
CUADRO No. 17	Análisis estadístico del número de transiciones en la prueba de la caja luz-oscuridad .....	86
CUADRO No. 18	Test anova para el número de transiciones en la prueba de la caja luz-oscuridad.....	87
CUADRO No. 19	Análisis estadístico del número de líneas cruzadas en el espacio claro de la caja luz-oscuridad.....	88
CUADRO No. 20	Test anova para el número de líneas cruzadas en el espacio claro de la caja luz-oscuridad.....	89

CUADRO No. 21	Análisis estadístico del número de líneas cruzadas en el espacio oscuro de la caja luz-oscuridad.....	90
CUADRO No. 22	Test anova para el número de líneas cruzadas en el espacio oscuro de la caja luz-oscuridad.....	91
CUADRO No. 23	Análisis estadístico del número de veces que el animal cruza el cuadro central en la prueba del campo abierto.....	93
CUADRO No. 24	Test anova para el número de veces que el animal cruza el cuadro central en la prueba del campo abierto.....	94
CUADRO No. 25	Análisis estadístico de la deambulaci3n en la prueba del campo abierto.....	95
CUADRO No. 26	Test anova para la deambulaci3n en la prueba del campo abierto.....	96
CUADRO No. 27	Análisis estadístico de las incorporaciones en la prueba del campo abierto.....	97
CUADRO No. 28	Test anova para las incorporaciones en la prueba del campo abierto.....	98
CUADRO No. 29	Análisis estadístico del aseo en la prueba del campo abierto.....	99
CUADRO No. 30	Test anova para el aseo en la prueba del campo abierto.....	100
CUADRO No. 31	Análisis estadístico de micci3n en la prueba del campo abierto..	101
CUADRO No. 32	Test anova para la micci3n en la prueba del campo abierto.....	102
CUADRO No. 33	Análisis estadístico de defecaci3n en la prueba del campo abierto.....	103
CUADRO No. 34	Test anova para la defecaci3n en la prueba del campo abierto...	104

## ÍNDICE DE TABLAS

TABLA No. 1	Síntomas de la ansiedad.....	1
TABLA No. 2	Composición química de la badea ( <i>Passiflora quadrangularis</i> ) por 100g de la porción comestible.....	30
TABLA No. 3	Ensayos fitoquímicos para la identificación de metabolitos secundarios.....	48
TABLA No. 4	Diseño experimental para evaluar la actividad ansiolítica.....	57

## ÍNDICE DE GRÁFICOS

GRÁFICO No. 1	Determinación de la prueba del alambre aplicada a cada grupo de ratones ( <i>Mus musculus</i> ) luego de la administración de los diferentes tratamientos.....	77
GRÁFICO No. 2	Determinación de la prueba del enterramiento de canicas aplicada a cada grupo de ratones ( <i>Mus musculus</i> ) luego de la administración de los diferentes tratamientos.....	79
GRÁFICO No. 3	Determinación de la prueba del laberinto elevado cero aplicada cada grupo de ratones ( <i>Mus musculus</i> ) luego de la administración de los diferentes tratamientos.....	82
GRÁFICO No. 4	Determinación del tiempo que el animal permaneció en el espacio claro de la caja luz-oscuridad aplicada a cada grupo de ratones ( <i>Mus musculus</i> ) luego de la administración de los diferentes tratamientos.....	85
GRÁFICO No. 5	Determinación del número de transiciones realizados por el animal en la prueba de la caja luz-oscuridad aplicada a cada grupo de ratones ( <i>Mus musculus</i> ) luego de la administración de los diferentes tratamientos.....	87
GRÁFICO No. 6	Determinación del número de líneas cruzadas por el animal en el espacio claro de la caja luz-oscuridad aplicada a cada grupo de ratones ( <i>Mus musculus</i> ) luego de la administración de los diferentes tratamientos.....	89
GRÁFICO No. 7	Determinación del número de líneas cruzadas por el animal en el espacio oscuro de la caja luz-oscuridad aplicada a cada grupo de ratones ( <i>Mus musculus</i> ) luego de la administración de los diferentes tratamientos.....	91
GRÁFICO No. 8	Determinación del número de veces que el animal cruza el cuadro central en la prueba del campo abierto aplicada a cada grupo de ratones ( <i>Mus musculus</i> ) luego de la administración de los diferentes tratamientos.....	93
GRÁFICO No. 9	Determinación de la deambulación del animal en la prueba del campo abierto aplicada a cada grupo de ratones ( <i>Mus musculus</i> ) luego de la administración de los diferentes tratamientos.....	95
GRÁFICO No. 10	Determinación de las incorporaciones del animal en la prueba del campo abierto aplicada a cada grupo de ratones ( <i>Mus musculus</i> ) luego de la administración de los diferentes tratamientos.....	97
GRÁFICO No. 11	Determinación del aseo del animal en la prueba del campo abierto aplicada a cada grupo de ratones ( <i>Mus musculus</i> ) luego de la administración de los diferentes tratamientos.....	99

GRÁFICO No. 12	Determinación de micción del animal en la prueba del campo abierto aplicada a cada grupo de ratones ( <i>Mus musculus</i> ) luego de la administración de los diferentes tratamientos.....	101
GRÁFICO No. 13	Determinación de defecación del animal en la prueba del campo abierto aplicada a cada grupo de ratones ( <i>Mus musculus</i> ) luego de la administración de los diferentes tratamientos.....	103



## ÍNDICE DE FIGURAS

FIGURA No. 1	Ansiedad.....	2
FIGURA No. 2	Flujograma para el diagnóstico de ansiedad.....	5
FIGURA No. 3	Sistema Simpático y Parasimpático.....	12
FIGURA No. 4	Crisina.....	24
FIGURA No. 5	Alcaloides tipo Harmano reportados en la familia <i>Passifloraceae</i> .....	25
FIGURA No. 6	Compuestos glicosilados presentes en la familia <i>Passifloraceae</i> .....	26
FIGURA No. 7	Esquema de extracción de los metabolitos secundarios.....	47

## ÍNDICE DE FOTOGRAFÍAS

FOTOGRAFÍA No. 1	Flor de badea ( <i>Passiflora quadrangularis</i> ).....	27
FOTOGRAFÍA No. 2	Ratón <i>Mus musculus</i> .....	38
FOTOGRAFÍA No. 3	Flores secas ( <i>Passiflora quadrangularis</i> ).....	49
FOTOGRAFÍA No. 4	Molienda.....	50
FOTOGRAFÍA No. 5	Maceración.....	51
FOTOGRAFÍA No. 6	Concentración del extracto.....	52
FOTOGRAFÍA No. 7	Prueba del Alambre.....	60
FOTOGRAFÍA No. 8	Prueba del Enterramiento de canicas.....	61
FOTOGRAFÍA No. 9	Prueba del Laberinto elevado cero.....	63
FOTOGRAFÍA No. 10	Prueba de la Caja luz-oscuridad.....	64
FOTOGRAFÍA No. 11	Prueba del Campo abierto.....	66
FOTOGRAFÍA No. 12	Cromatografía Alcaloides.....	72
FOTOGRAFÍA No. 13	Cromatografía Flavonoides.....	73

## ÍNDICE DE ANEXOS

ANEXO No. 1	Control de calidad de la droga seca y pulverizada de <i>Passiflora quadrangularis</i> .....	120
ANEXO No. 2	Control de calidad del extracto fluido de flor de badea ( <i>Passiflora quadrangularis</i> ).....	121
ANEXO No. 3	Tamizaje fitoquímico del extracto de flor de badea ( <i>Passiflora quadrangularis</i> ).....	121
ANEXO No. 4	Cuantificación de principios activos de flor de badea ( <i>passiflora quadrangularis</i> ) por espectrofotometría.....	124
ANEXO No. 5	Curva de calibración de rutina para cuantificación de flavonoides en concentraciones de 20, 40, 60 y 100 ppm.....	125
ANEXO No. 6	Manipulación y administración a ratones ( <i>Mus musculus</i> ).....	125

## RESUMEN

Se realizó la evaluación del efecto ansiolítico del extracto hidroalcohólico de flor de badea (*Passiflora quadrangularis*) en ratones (*Mus musculus*); estudio realizado en los Laboratorios de Productos Naturales, Análisis Instrumental y Bioterio de la Escuela Superior Politécnica de Chimborazo para ayudar a reducir la ansiedad, en pacientes con trastornos de ansiedad, contribuyendo a mejorar su calidad de vida.

Con las flores de badea recolectadas en el cantón Sushufindi, provincia de Sucumbíos, se elaboró un extracto hidroalcohólico con parámetros de calidad, sus compuestos fueron identificados mediante tamizaje fitoquímico, cromatografía en capa fina (TLC) y espectrofotometría UV-Visible. Para su efecto se realizó un estudio preclínico utilizando 18 ratones *Mus musculus* divididos en 6 lotes de 3 ratones cada uno denominados: G1 (Blanco), G2 (Control positivo químico), G3 (Control positivo natural), G4, G5 y G6 (Experimentos Netos). Como tratamientos, el grupo G1 recibió vehículo (suero fisiológico: glicerina), G2 zopiclona, G3 *Passiflora incarnata* y los grupos G4, G5 y G6 extracto de *Passiflora quadrangularis* al 100%, 65% y 30% respectivamente. A cada ratón se le administró 0.2ml del tratamiento por vía oral y luego de 30 minutos se le realizó 5 ensayos neurofarmacológicos (Prueba del Alambre, Enterramiento de canicas, Laberinto elevado cero, Caja luz-oscuridad y Campo abierto) que sirvieron para evaluar el comportamiento de su Sistema Nervioso. Los resultados del estudio preclínico se analizaron mediante un test estadístico Anova y post-estadístico de Tukey HSD 95% de confianza.

Evidenciando una disminución de los niveles de ansiedad in vivo en las tres concentraciones administradas de *Passiflora quadrangularis* resultando ser más efectiva la concentración al 100%. Se concluye que el extracto de flor de badea posee potenciales efectos ansiolíticos, siendo los alcaloides y flavonoides los compuestos responsables de esta actividad. Se recomienda que este estudio sea de interés terapéutico para elaborar nuevos productos y tratar a pacientes con trastornos de ansiedad.

## SUMMARY

Assessing the anxiolytic effect of the hydroalcoholic extract badea flower (*Passiflora quadrangularis*) in mice (*Mus musculus*) was performed; study in the Natural Products Laboratory, Instrumental Analysis and Bioterio Polytechnic School of Chimborazo to help reduce anxiety in patients with anxiety disorders, helping to improve their quality of life.

With flowers badea Shushufindi collected in the province of Sucumbios, a hydroalcoholic extract quality parameters was developed, compounds were identified by phytochemical screening, thin layer chromatography (TLC) and UV-visible spectrophotometry. To effect a preclinical study was conducted using 18 mice *Mus musculus* divided into 6 lots of 3 mice each called G1 (White), G2 (positive control chemical), G3 (positive control natural) G4, G5 and G6 (Experiments Net). Such treatments, the G1 group received vehicle (saline: glycerol), zopiclone G2, G3 *Passiflora incarnata*, and G4 groups, G5 and G6 *Passiflora quadrangularis* extract 100%, 65% and 30% respectively. Each mouse was administered 0.2ml of oral treatment and after 30 minutes was performed 5 neuropharmacological tests (Test Wire, Burial of marbles, elevated zero maze, light-dark box and open field) that were used to assess the behavior of the Nervous System. Preclinical study results were analyzed by ANOVA and post-test statistic statistical HSD Tukey 95% confidence. Showing reduced anxiety levels in vivo in all three concentrations of *Passiflora quadrangularis* administered proving more effective concentration 100%. It is concluded that the flower extract possesses potential anxiolytic badea being alkaloids and flavonoids compounds responsible for this activity. It is recommended that this study be of therapeutic interest to develop new products and treat patients with anxiety disorders.

## INTRODUCCIÓN

La ansiedad es una alteración psiquiátrica que afecta entre el 5% y el 18% en Latinoamérica, es decir, a una gran parte de la población por lo que se convierte en un problema habitual. Se relaciona con morbilidad significativa y deterioro en su vida social y académica. Hoy por hoy, las personas viven en un mundo en el que la inestabilidad y la incertidumbre gobiernan aspectos de la vida laboral, económica, política y social, entre otros. En ocasiones esta incertidumbre puede provocar que las personas se encuentren en un momento de desconcierto donde su prioridad va a ser la búsqueda del equilibrio y la estabilidad. (CAICEDO, V. y otros. 2011) (GÓMEZ, H. 2013)

De todas las enfermedades mentales, los trastornos de ansiedad son los más comunes. Según datos de la Organización Mundial de la Salud (OMS) en los Servicios de Atención Primaria (APS) en el mundo, se encuentra una prevalencia del 12% de la población adulta para los trastornos de ansiedad (OMS, 2005), de igual manera la OMS establece que estos trastornos son los que más llegan a iniciarse en edades tempranas con una mediana de 15 años de edad alcanzando la mayor prevalencia entre los 25 y 45 años, siendo el género femenino el más prevalente (OMS 2004). Otros estudios establecen tasas de prevalencia para cualquier trastorno de ansiedad en el transcurso de la vida entre 10.4 y 28.8% y en el último año una prevalencia del 18%. La Organización panamericana de Salud (OPS) por un estudio realizado en América Latina y el Caribe sobre los Trastornos Mentales indica que los trastornos que se presentan con mayor frecuencia son el Trastorno de Ansiedad Generalizada (TAG), Trastorno Obsesivo Compulsivo (TOC) y el trastorno de Pánico (TP) con una prevalencia media al último año de 3.4%, 1.4% y 1.0% respectivamente. (OPS, 2006). El Ministerio de Salud Pública del Ecuador (MSP) registró en el año 2011 y 2012 a 5000 personas con depresión y ansiedad a nivel nacional, sin embargo; no se logra registrar el total de casos debido a que la mayoría de veces se apuntan las causas médicas subyacentes

como son gastritis crónica por estrés laboral o heridas por intento de suicidio. (MSP Y BIENESTAR SOCIAL. 2013) (OMS. OPS. y CICAD. 2005) (OPS, OMS. 2005)

Existe una variedad de tipos de fármacos que se utilizan para aliviar la ansiedad, anteriormente se usaba los barbitúricos que a causa de su toxicidad han sido sustituidos desde 1960 por las benzodiazepinas los cuales son los más comunes y los más recomendados por el personal médico por su óptimo efecto farmacológico en patologías donde se ve inmerso la ansiedad. (PÉREZ, R. 2012)

La automedicación de fármacos con actividad en el SNC es una práctica muy generalizada. Las sustancias ansiolíticas que son aceptadas en el entorno social provocan estabilidad, alivio e incluso placer a la mayoría de personas. Sin embargo, el empleo excesivo de estas y otras sustancias puede también afectar de manera adversa la vida del individuo cuando su uso compulsivo y desordenado culmina en dependencia física del fármaco o efectos adversos tóxicos que pueden llegar a la muerte por sobredosificación. (GÓMEZ, H. 2013) (PUCHOL, D. 2011)

Tomando en cuenta estos problemas provocados por los ansiolíticos de origen sintético, la fitoterapia toma como objetivo principal aportar diferentes preparados manufacturados a partir de plantas medicinales que, debido a los principios activos que contienen, son de interés en el tratamiento de la ansiedad produciendo menos efectos secundarios y una eficacia, al menos, moderada comparada con los fármacos. (FALCÓN, F. 2012)

Las plantas con propiedades ansiolíticas han sido empleadas por el hombre desde la antigüedad, hoy en día su uso está ganando aceptación en el campo de la psiquiatría debido al incremento en el número de ensayo preclínicos que demuestran su eficacia, hecho que convite al uso de remedios caseros elaborados con estas plantas como la primera opción para la mayoría de personas.

Una gran alternativa es la *Passiflora incarnata* por ser la más conocida y utilizada como materia prima en la fabricación de fitomedicamentos por su actividad comprobada para reducir la ansiedad, disponible para el público en diferentes presentaciones. Este ha sido el motivo para que la familia de las *Passifloras* sea de interés de estudio. (FALCÓN, F. 2012) (KAMALDEEP, D. y otros. 2001)

La especie selecta para esta investigación es la *Passiflora quadrangularis*, es típica de las zonas tropicales de nuestro país, su producción se da especialmente en Quevedo, El Empalme, Bazar, Vinces, Babahoyo, Milagro, El Triunfo, Naranjal, y Pasaje. En el mercado nacional hay una baja demanda debido al desconocimiento por parte de la población acerca de las propiedades de la misma. (PEÑA, J. 2013)

Este trabajo tiene como objetivo la obtención de un extracto hidroalcohólico de flores de badea (*Passiflora quadrangularis*), que cumpla con parámetros de calidad, la identificación de metabolitos secundarios mediante tamizaje fitoquímico y cromatografía de capa fina, y la realización de un estudio preclínico por medio de ensayos neurofarmacológicos en ratones albinos (*Mus musculus*) para evaluar la actividad ansiolítica del extracto hidroalcohólico en tres diferentes concentraciones.

Por último, cabe mencionar que la importancia de este tipo de investigación no solo radica en la aportación de conocimiento científico, sino que a la vez permite promover el uso de plantas medicinales de una manera eficaz en beneficio de la salud ecuatoriana enmarcados en los lineamientos de Buen Vivir.



# **CAPÍTULO I**

## **1. MARCO TEÓRICO**

### **1.1 GENERALIDADES DE LA ANSIEDAD**

El mundo actual implica una época de grandes cambios, con ritmos de vida enormemente acelerado, mayor demanda de competencia y especialización. Este entorno exige a las personas mayor grado de autonomía, flexibilidad, capacidad de iniciativa, seguridad en sí mismo y capacidad para moldearse a situaciones nuevas, precisamente las contrariedades y exigencias que cotidianamente debe enfrentar el hombre propician estar sometido a muchos momentos de angustia. (PÉREZ, R. 2012)

### **1.2 ANSIEDAD**

Ansiedad es un término que proviene del latín anxietas, que significa desconsuelo, inquietud del ánimo, agitación. En general, la ansiedad combina diferentes manifestaciones físicas y mentales que no se aplican a peligros o problemas reales. (DELGADO, F. 2009)

Existen dos tipos de ansiedad: la normal y la patológica.

La normal o leve está presente en la vida habitual y provoca una sensación de nerviosidad, impaciencia y preocupación a diferencia de la patológica la cual se basa en valoraciones irreales o distorsionadas de amenaza llegando a manifestarse como crisis o como un estado persistente y difuso, lo que conlleva a una parálisis de la persona y dificultad para realizar las acciones de su vida diaria, incluso se puede llegar a transformar en un trastorno. (LOZANO, A. 2013) (MONTI, J. 2010)



FUENTE: <http://depsicologia.com/ansiedad-conociendola-mas-de-cerca/>

**FIGURA 1. ANSIEDAD**

La ansiedad es un sistema de alerta del organismo frente a situaciones que se consideran amenazantes, pues está relacionado a la percepción de amenaza y a la disposición de respuestas frente a ella. La ansiedad tiene como función advertir y activar al organismo, así como de movilizarlo ante situaciones probables o reales, de forma que pueda salir sin problemas de ellas. (LOZANO, A. 2013)

En dependencia de la gravedad de la amenaza o adversidad que se presente, la ansiedad prepara al organismo para luchar, enfrentar o atacar posibles peligros o problemas, huir de amenazas, evitar situaciones temidas, buscar apoyo, elementos de seguridad y protección.

Aunque la palabra ansiedad ha sido utilizada de forma indistinta por su gran confusión terminológica con un grupo de términos como son: angustia, temor, stress, miedo, amenaza, tensión, frustración o arousal; existen diferencias entre ansiedad y algunos de estos sinónimos. (NARANJO, K. Y SALAZAR, J. 2012)

### **Ansiedad vs miedo**

La ansiedad es una reacción de anticipación de un futuro peligro o amenaza, en cambio el miedo se considera como un sentimiento que se produce por un peligro existente, por lo que se encuentra ligado al estímulo que lo genera.

### **Ansiedad vs angustia**

En la ansiedad predominan síntomas psíquicos, sensaciones de desastres y de peligros exageradamente amenazantes causando siempre reacciones de sobresalto y desesperación por encontrar soluciones a dicho peligro, el fenómeno se percibe con mayor claridad. En cambio en la angustia los síntomas que predominan son los físicos, siendo este más leve que la ansiedad porque la reacción es de paralización, alarma y la captación del fenómeno es disminuido.

En consecuencia, siempre que se habla tanto de angustia como de ansiedad se refiere a la misma reacción desde fundamentos teóricos diferentes.

### **Ansiedad vs arousal**

El arousal se considera como componente común a cualquier motivación y estimulación. Las estimulaciones que no están relacionadas con la ansiedad pueden provocar que el arousal se incremente. Por lo tanto la ansiedad se podría definir como el arousal provocado específicamente por una percepción de peligro. (DELGADO, F. 2009) (MONTI, J. 2010)

#### **1.2.1 CAUSAS**

Las causas de la ansiedad como gran parte de las enfermedades que afectan a la salud mental, no se conocen exactamente. En algunos pacientes la ansiedad se presenta sin causas aparentes, sin embargo, otras tienen ansiedad luego de un fuerte acontecimiento o situación estresante.

Algunos investigadores consideran que la ansiedad se produce debido a una combinación de factores, incluyendo los procesos biológicos corporales, el entorno, las experiencias de la vida y la genética, siendo este último la causa más fundamental para provocar un trastorno.

Los trastornos de ansiedad llegan hacerse crónicos ante sucesos estresantes persistentes y estilos de pensamiento que provocan temor a la aparición de síntomas, creándose un círculo vicioso entre la ansiedad y el miedo a tenerla. (HOLLANDER, E. y SIMEON, D. 2004)

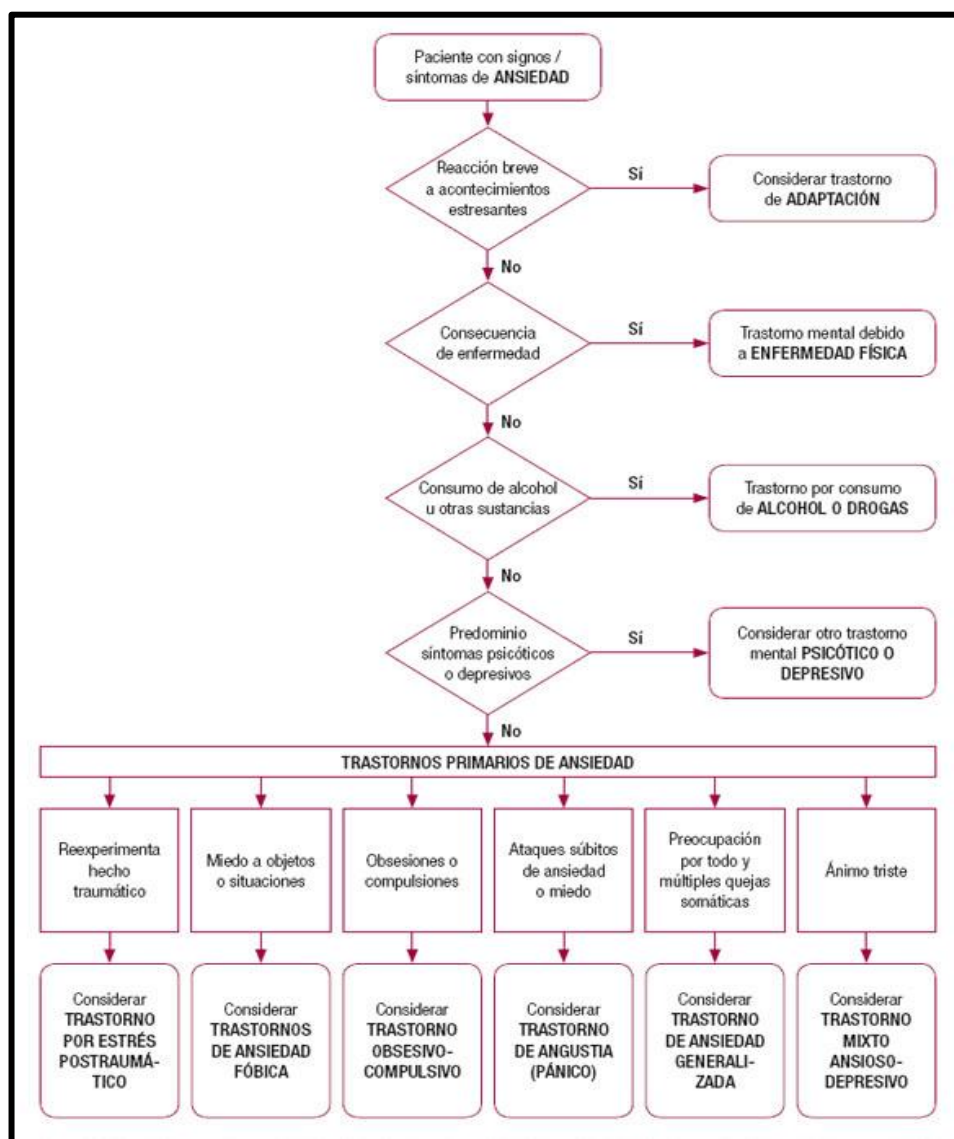
### 1.2.2 DIAGNÓSTICO

Para diagnosticar una ansiedad el paciente debe ir al médico en caso de notar que dicha ansiedad está afectando su vida normal o provocándole angustia.

La ansiedad como tal, se considera una enfermedad de difícil diagnóstico. El médico tratante comenzará realizando preguntas en base a los factores que están contribuyendo a la ansiedad como temores, preocupaciones, sentimientos y hasta puede solicitar información de la vida personal.

Es importante que el médico este en conocimiento desde cuándo empezaron los síntomas del paciente para realizar un correcto diagnóstico. (LADER, M. y otros. 2009)

Como ejemplo de este procedimiento se presenta el siguiente flujograma.



FUENTE: <http://www.guiasalud.es/egpc/ansiedad/completa/apartado05/diagnostico.html>

**FIGURA No. 2. FLUJOGRAMA PARA EL DIAGNÓSTICO DE ANSIEDAD**

### 1.2.3 SÍNTOMAS

Los síntomas que se presentan en la ansiedad son muy variados, los mismos que se clasifican en cinco grupos: Físicos, psicológicos, de conducta, intelectuales o cognitivos y sociales como se indica en la Tabla No. 1. Cabe mencionar que estas manifestaciones sintomatológicas no se generalizan para todas las personas, ni se presentan con la misma

intensidad en todos los casos. Los síntomas dependen de la susceptibilidad biológica y/o psicológica en la que se encuentre cada persona, así como la gravedad de la ansiedad ya sea ésta normal o patológica. Algunos de estos síntomas llegan a manifestarse con mayor intensidad en alteraciones o trastornos de ansiedad. (DELGADO, F. 2009) (LOZANO, A. 2013)

**TABLA No. 1. SÍNTOMAS DE LA ANSIEDAD**

FÍSICOS	PSICOLÓGICOS	DE CONDUCTA	INTELECTUALES O COGNITIVOS	SOCIALES
<ul style="list-style-type: none"> <li>- Temblores o sacudidas</li> <li>- Sudoración excesiva</li> <li>- Dificultad para respirar</li> <li>- Mareos</li> <li>- Dolor en el pecho o malestar</li> <li>- Enrojecimiento de la piel</li> <li>- Náuseas, vómitos, diarrea</li> <li>- Tensión muscular</li> <li>- Problemas de sueño</li> <li>- Impulsividad</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Inquietud</li> <li>- Agobio</li> <li>- Inseguridad</li> <li>- Sensación de amenaza o peligro</li> <li>- Ganas de huir o atacar.</li> <li>- Temor a perder algo</li> <li>- Dificultad para tomar decisiones</li> <li>- Sensación de vacío</li> <li>- Sospechas</li> <li>- Incertidumbre</li> <li>- Temor a la muerte, locura o suicidio</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Estado de alerta e hipervigilancia</li> <li>- Inhibición</li> <li>- Bloqueos</li> <li>- Torpeza o dificultad de hablar</li> <li>- Impulsividad</li> <li>- Inquietud motora</li> <li>- Dificultad para estar quieto y en reposo</li> <li>- Cambios en la expresividad y lenguaje corporal como rigidez, cambios en la voz, movimientos torpes, posturas cerradas</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Dificultades de atención, concentración y memoria</li> <li>- Aumento de los despistes y descuidos</li> <li>- Preocupación excesiva</li> <li>- Expectativas negativas</li> <li>- Pensamientos distorsionados e inoportunos</li> <li>- Incremento de las dudas y la sensación de confusión</li> <li>- Tendencia a recordar cosas desagradables</li> <li>- Abuso de la prevención y de la sospecha</li> <li>- Interpretaciones inadecuadas</li> <li>- Susceptibilidad</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Irritabilidad</li> <li>- Hostilidad</li> <li>- Ensimismamiento</li> <li>- Dificultades para iniciar o seguir una conversación</li> <li>- Bloquearse o quedarse en blanco a la hora de preguntar o responder</li> <li>- Dificultad para expresar opiniones o hacer valer los propios derechos</li> <li>- Temor excesivo a posibles conflictos</li> </ul>

FUENTE: Rea. V. RECOPIACIÓN BIBLIOGRÁFICA

## 1.2.4 TRASTORNOS DE LA ANSIEDAD

Un trastorno de ansiedad puede hacer que la gente se sienta ansioso casi todo el tiempo. Las personas con trastornos de ansiedad pueden tener sentimientos que son tan incómodos que

evitan las rutinas diarias y las actividades que pueden causar estos sentimientos. Algunas personas tienen ataques de ansiedad ocasionales tan intensas que están aterrorizados o inmovilizados. Generalmente, las personas con trastornos de ansiedad suelen ser conscientes de la naturaleza irracional y excesiva de sus temores. (CAICEDO. V. y otros. 2011)

Las principales categorías de los trastornos de ansiedad se clasifican según el enfoque de la ansiedad. A continuación se da una breve descripción de cada uno:

#### **1.2.4.1 Agorafobia**

Es un trastorno que se caracteriza por el miedo absurdo generado por los individuos al encontrarse en espacios abiertos, frente a multitudes de gente y por el temor de abandonar lugares que consideran seguros como generalmente es su casa. El mayor miedo de una persona agorafóbica es quedarse solo e indefenso, aterrándoles solo el hecho de pensar que pueden sufrir un desmayo, sin ayuda, en público y debido a esto prefirieren la compañía de una persona de confianza ya que les ayuda a reducir su conducta de evitación. La agorafobia es el trastorno de pánico más incapacitante, y algunas de las personas llegan a quedarse prácticamente internados en su hogar. (CAICEDO. V. y otros. 2011) (HOLLANDER, E. y SIMEON, D. 2004)

#### **1.2.4.2 Fobia Social**

Es el trastorno que se presenta desde tempranas edades, donde existe normalmente demasiada ansiedad ante situaciones de la vida cotidiana como es el hablar en público, comer o escribir en presencia de otros, e incluso orinar en baños públicos por el gran temor, vergüenza y miedo que sienten por ser criticados o humillados.

La ansiedad que gobierna a la persona en la mayoría de las veces se presenta desde días anteriores al determinado evento y no precisamente en aquel momento llegando incluso a prolongarse luego de este. (GÓMEZ, H. 2013) (HOLLANDER, E. y SIMEON, D. 2004)

### **1.2.4.3 Fobia Específica**

El individuo con fobia específica anticipa el daño, como el ser mordido por un perro, o el pánico a perder el control cuando se encuentre en una situación determinada, o temer desmayarse al cerrarse una puerta.

La fobia a los animales habitualmente son miedos monosintomáticos que comienza en la niñez antes de los ocho años de edad. Los pacientes con estas fobias se condicionan en forma diferente a como lo hacen los fóbicos adultos. (MARDOMINGO, M. 1994)

### **1.2.4.4 Trastorno de Ansiedad Generalizada (TAG)**

Las personas con TAG suelen ir a lo largo de todo el día, tensos y con preocupaciones excesivas, aunque no exista nada suficientemente importante que lo justifique. Estas preocupaciones anticipan el desastre y pueden abarcar cualquier tema (salud, dinero, pareja, familia, trabajo), aunque cada paciente suele tener un grupo de temas más frecuentes. La intensidad de las preocupaciones puede llegar a bloquear la toma de decisiones cotidianas y a interferir de forma severa en la vida diaria. Físicamente aparece dificultad para relajarse o concentrarse y para el descanso nocturno.

Todo esto tiende a facilitar la presencia de fatiga, dolores de cabeza, contracturas y tensión muscular elevada, como múltiples posibles síntomas inespecíficos digestivos, respiratorios o cardíacos que afortunadamente no corresponden a otras enfermedades. Para diagnosticar el TAG es preciso tener estos síntomas durante más de 6 meses.

Si la ansiedad es muy elevada es posible que se empiece a evitar ciertos lugares o decisiones. En general esto no sucede y se desarrolla la vida normalmente con un buen funcionamiento social, incluyendo el trabajo o estudios. (LARA, A. 2005)



#### **1.2.4.5 Trastorno Estrés Postraumático**

El estrés postraumático aparece en forma diferida o tardía (semanas o meses), después de un acontecimiento traumático fuera del rango de la experiencia humana normal (como un desastre, violación, incesto, secuestro, tortura, accidentes) el paciente puede ser víctima directa del trauma, haberlo presenciado o le han explicado. Los pacientes presentan reexperiencia persistente del trauma, evitación de estímulos asociados al trauma, embotamiento y síntomas de alerta aumentada. Estos síntomas se prolongan por lo menos un mes. Este trastorno es agudo si dura menos de tres meses y crónico si dura más de tres meses. (CAICEDO. V. y otros. 2011) (LOZANO, A. 2013)

#### **1.2.4.6 Trastorno del Pánico (TP) o Trastorno de Angustia.**

El trastorno de angustia es una enfermedad que afecta al doble de mujeres que de varones, la presenta el 2,7% de la población adulta. Este trastorno presenta crisis de pánico repentinas, caracterizadas por la aparición de un miedo intenso acompañado de síntomas físicos como palpitaciones, falta de aire, temblor, sudoración y en ocasiones pérdida de conocimiento. Las crisis de angustia pueden llegar a producir una sensación de irrealidad del medio externo, y un intenso miedo a perder el control. Aunque suelen durar unos 10 minutos que se hacen eternos, algunos síntomas puede durar bastante más tiempo.

Lo más frecuente, sobre todo al inicio, es que quien padece las crisis esté convencido de que está padeciendo un ataque cardíaco, a punto de morir o de volverse locos. Como no es posible predecir el próximo ataque, que puede suceder incluso durmiendo, es muy frecuente tener preocupaciones intensas y estar a la expectativa de la siguiente crisis. (LARA, A. 2005)

#### **1.2.4.7 Trastorno Obsesivo – Compulsivo (TOC)**

El trastorno obsesivo-compulsivo se caracteriza por ser persistentes, incontrolables, tener sentimientos o pensamientos no deseados (obsesiones) y que en ocasiones realizan actos o

rituales (compulsiones) para controlar la ansiedad que les produce estos pensamientos. Con frecuencia los rituales acaban controlando a la persona.

Las obsesiones suelen llevar a conductas compulsivas. Así, la obsesión por la limpieza suele llevar a conductas de limpieza repetitivas. La obsesión por el orden suele llevar a tareas de comprobación, alineación, clasificación y corrección continuas. La obsesión por la seguridad suele llevar a la comprobación de situaciones potencialmente peligrosas como la electricidad, el gas, o el cierre de puertas y ventanas.

Los rituales de comprobación frecuentemente exigen un número determinado de repeticiones o una secuencia de actos. Cuando se duda de que las compulsiones se estén realizando “correctamente”, uno puede quedar atrapado, incluso durante horas, en esa conducta. (CAICEDO. V. y otros. 2011) (LADER, M. y otros. 2009)

### 1.2.5 FISIOLÓGÍA DE LA ANSIEDAD

El Sistema Nervioso consta de dos elementos principales, el Sistema Nervioso Central que está conformado por cerebro y médula espinal y el Sistema Nervioso Periférico que lo conforman todas las fibras nerviosas que se envían desde los nervios craneales y de la médula espinal al resto del cuerpo incluyendo los órganos. El Sistema Nervioso Periférico está formado de dos sistemas que son: El Sistema Nervioso Somático que está bajo el control voluntario, ejemplo: pestañar, abrir y cerrar las manos, etc., y el Sistema Nervioso Autónomo que es un sistema involuntario que se encarga de regular funciones importantes como la digestión, respiración, circulación sanguínea y metabolismo. (ARONSON, J. 2009)

El Sistema Nervioso Autónomo se divide en dos subsistemas que son:

- Sistema Nervioso Simpático: Es el encargado de preparar a nuestro organismo para la acción (defensa o huida) en caso de amenaza.

- Sistema Nervioso Parasimpático: Contrario al sistema nervioso simpático, este genera la desactivación, la recuperación y restauración del cuerpo manteniendo la conservación y almacenamiento de energía.

Ambos sistemas reciben órdenes del Sistema Nervioso Central y llevan las órdenes de éste al Corazón, los Pulmones, el Sistema Digestivo (estómago e intestinos) y otras partes del cuerpo que estén implicadas en la preparación del organismo humano para la acción.

Es de mucha importancia tener en cuenta esta división en especial si se trata de ansiedad debido a que los síntomas fisiológicos observados como consecuencia de ésta, provienen de la activación del Sistema Autónomo Simpático. (GÓMEZ, H. 2013) (REYES, A. (2010)

### **Sistema Nervioso Autónomo Simpático.**

Este sistema mantiene la homeostasis del organismo. La activación simpática supone la secreción de catecolaminas que son:

- La adrenalina segregada por parte de la médula suprarrenal, especialmente en casos de estrés psíquico y de ansiedad.
- La noradrenalina segregada por las terminaciones nerviosas simpáticas, aumentando su concentración principalmente en el estrés de tipo físico, en situaciones de alto riesgo o de agresividad.

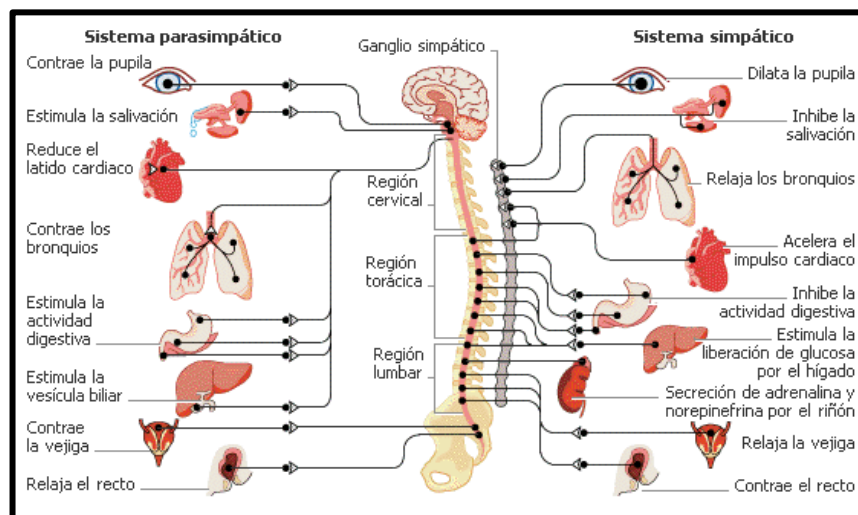
Estas hormonas son las encargadas de poner el cuerpo en estado de alerta preparándolo para luchar o huir. Son las que permiten enlazar el fenómeno del estrés con los fenómenos psicofisiológicos de la emoción. Ambas intervienen en los siguientes procesos:

- Dilatación de las pupilas.
- Dilatación bronquial.

- Movilización de los ácidos grasos, pudiendo dar lugar a un incremento de lípidos en sangre (posible arterioesclerosis).
- Aumento de la coagulación.
- Incremento del rendimiento cardíaco que puede desembocar en una hipertensión arterial.
- Vasodilatación muscular y vasoconstricción cutánea.
- Reducción de los niveles de estrógenos y testosterona, que son hormonas que estimulan el desarrollo de las características sexuales secundarias masculinas.
- Inhibición de la secreción de prolactina, que influye sobre la glándula mamaria.
- Incremento de la producción de tiroxina, que favorece el metabolismo energético, la síntesis de proteínas, etc. (LADER, M. y otros. 2009)

Ante una situación de estrés, existe un compromiso de todo el organismo.

Como se muestra en la Fig. No. 3. El sistema nervioso simpático es el que provoca todos los síntomas de alerta que se generan por la ansiedad, en cambio, el Sistema nervioso parasimpático provoca relajación, mantiene en balance, armonía y bienestar al cuerpo y a la mente. (LADER, M. y otros. 2009)



FUENTE: <http://fruty-sb25canning.blogspot.com/2011/05/el-sistema-simpatico-y-sistema.html>

**FIGURA. 3. SISTEMA SIMPÁTICO Y PARASIMPÁTICO**

## 1.2.6 NEUROQUÍMICA DE LA ANSIEDAD

### 1.2.6.1 Sinapsis Neuronal

El sistema nervioso está formado por millones de neuronas vinculadas entre sí para formar vías de conducción funcionales. Las células que forman el sistema nervioso se llaman neuronas que se comunican y conectan entre sí a través de sus ramificaciones por medio de la sinapsis.

Las sustancias químicas están contenidas en unas vesículas situadas en los extremos de las ramificaciones neuronales muy cerca del espacio sináptico que es el lugar en que las neuronas se comunican entre sí.

La sinapsis empieza mediante un impulso eléctrico las vesículas de las neuronas presinápticas liberan las moléculas químicas que viajan a través de la sinapsis hasta las neuronas postsinápticas o receptoras. Las neuronas utilizan su lenguaje electroquímico para comunicarse entre sí continuamente. (ARONSON, J. 2009)

El impulso eléctrico que envía la neurona presináptica viaja por una fibra llamada axón hasta llegar a las dendritas que son el extremo de la neurona en el que permanecen almacenadas las moléculas químicas. El estímulo eléctrico activa la transmisión química para que las moléculas que logren atravesar la sinapsis bombardeen la neurona postsináptica que posee una membrana especial para fusionarse con las moléculas y así emitir respuestas bioquímicas. Estas moléculas que viajan de una membrana a otra se llaman Neurotransmisores. (MARDOMINGO, M. 1994)

Los Neurotransmisores son sustancias químicas que actúan como mensajeros encargados de transmitir la información entre el sistema nervioso y las diferentes partes del cuerpo para producir una determinada respuesta fisiológica. (LADER, M. y otros. 2009)

### **1.2.6.2 Neurotransmisores de la Ansiedad**

Existen una variedad de neurotransmisores implicados directa o indirectamente en respuesta de ansiedad como se verá a continuación, pero generalmente se incluye al ácido amino butírico (GABA), noradrenalina, dopamina y serotonina como principales circuitos sinápticos. (PALLO, M. 2012)

#### **Ácido Amino Butírico (GABA)**

El GABA es el principal y más abundante neurotransmisor inhibitorio en el SNC del mamífero. Se dividen en 3 tipos de receptores: los inotrópicos GABA-A y los metabotrópicos, GABA-B y GABA-C.

El subtipo de receptor del GABA más relevante, es el receptor GABA A, es un complejo macromolecular postsináptico que forma un canal de iones de cloro y cuando se activa al unirse con el receptor GABA a partir de las neuronas presinápticas, éste canal se abre y el flujo de cloro aumenta, lo que provoca una disminución de la excitabilidad neuronal dando como respuesta una acción inhibitoria. Se ha caracterizado bien la proteína receptora del GABAA a causa de su gran abundancia y su función en casi todos los circuitos neuronales. El receptor se ha caracterizado, además, de manera extensa en su función como sitio de acción de muchos fármacos neuroactivos. Notables entre ellos son las benzodiazepinas y los barbitúricos. Los receptores GABA B y GABA C, no se relacionan con los receptores benzodiazepínicos. La presencia de GABA favorece la relajación y permite mantener los sistemas bajo control, por una disminución en sus niveles existe dificultad para conciliar el sueño y aparece la ansiedad. (LADER, M. y otros. 2009) (NASSIRI, M. y otros. 2007)

#### **Noradrenalina**

La Noradrenalina conocida también como Norepinefrina es una catecolamina que se origina principalmente en *Locus ceruleus* de la protuberancia anular del cerebro. Se deriva de la

Tirosina que por acción de la enzima Tirosina-hidroxilasa produce Dopa en la cual actúa la enzima Dopa dextracarboxilasa convirtiéndole en Dopamina, esta última es la que sintetiza a la Noradrenalina. Existen una variedad de receptores adrenérgicos ubicados en el hipotálamo que son los de tipo Alfa (Alfa 1 y Alfa 2) y los de tipo Beta (Beta 1, Beta 2, Beta 3, Beta 4).

Este neurotransmisor está implicado en reacciones de excitación y estrés, así como en estados de alerta y vigilancia, por lo que un aumento de Noradrenalina contribuye a la sensación de nerviosismo y ansiedad. (ARONSON, J. 2009)

### **Dopamina**

Es una catecolamina que se deriva de la Tirosina. A nivel cerebral se presentan dos rutas principales de dopamina, la mesolímbica y la mesocortical. La ruta mesolímbica se activa de forma directa o indirectamente a través de la mayoría de las sustancias psicoactivas y la ruta dopaminérgica mesocortical se proyecta de la sustancia negra al estriado, por lo que se le conoce generalmente como ruta nigroestriada. En el Parkinson, ésta ruta se degrada provocando trastornos en el movimiento. En general, este neurotransmisor está implicado en el movimiento, aprendizaje y la motivación, además; se le ha señalado como elemento activo en los Trastornos de ansiedad y más comúnmente en la Fobia social. (MONTI, J. 2010)

Existen 4 subtipos básicos de receptores de dopamina: Los D1, D2, D3, y D4, donde el D1 se relaciona con un factor activador y el D2 con un factor inhibidor. (MONTI, J. 2010)

### **Serotonina**

Este neurotransmisor se deriva del aminoácido triptófano y se sintetiza en la neurona, tiene como metabolito principal al 5-hidroxi-indolacético (5HT). Los receptores serotoninérgicos pre y post sinápticos asociados con la ansiedad son: 5 HT 1A, 2A, 2C y 1D, que se encuentran en una región del cerebro medio denominada núcleos de Raphe. La serotonina está implicada en la alteración de apetito, energía, sueño, estado de ánimo y la función

cognitiva en la ansiedad. Su papel en la ansiedad está respaldado por la modulación de efecto sobre el locus ceruleus y sus proyecciones a la amígdala; estructura anatómica casi concluyente implicado en la ansiedad. El miedo y el estrés activan las vías serotoninérgicas.

Específicamente la serotonina está relacionada en la génesis de los trastornos provocados por la ansiedad, principalmente en los trastornos de pánico, fobia social y trastorno obsesivo compulsivo. (MONTI, J. 2010) (MONTI, J. y otros. 2010)

### **Acetilcolina (ACh)**

La acetilcolina es un neurotransmisor específico a nivel ganglionar en el Sistema Nervioso Autónomo (SNA) y en la sinapsis del Sistema Nervioso Somático (SNS). Se forma a partir de la unión de Colina con Ácido acético a través de una reacción enzimática con la coenzima A. Se han descrito dos subtipos de receptores colinérgicos, los nicotínicos y los muscarínicos y de cada uno de estos, se derivan una variedad de subtipos.

La ACh desempeña un papel fundamental en el aprendizaje, la memoria, en el ciclo sueño-vigilia y para la regulación de sistemas de vigilancia donde está inmerso la ansiedad. (LADER, M. y otros. 2009)

### **Somatostatina**

Es un neuropéptido que cumple su principal función en la hipófisis. La somastatina está implicada en el comportamiento, reducción de la actividad motora y puede llegar a ser un inhibidor de la frecuencia de descarga neuronal en diferentes partes del cerebro.

### **Neuropéptido Y**

Es un péptido que por lo general se encuentra en la amígdala, hipotálamo, hipocampo y acumbens. Se caracteriza por tener efecto ansiolítico. Son tres los subtipos de receptores de



este neurotransmisor: Y1, Y2 y Y3, siendo el Y1 el receptor que al parecer está relacionado con las actividades de control de la ansiedad. (MARDOMINGO, M. 1994)

### **Colesistoquinina (CCK)**

Receptores CCK2 son el subtipo predominante en el SNC, con los receptores CCK1 restringen a algunos núcleos discretos. La amplia distribución de los receptores CCK2 en el SNC es consistente con las diversas funciones atribuidas a CCK neural, incluyendo la regulación de la alimentación (saciedad), el control de aprendizaje y la memoria, la expresión conductual de la ansiedad, la mediación del dolor, la regulación cardiovascular, el control neuroendocrino, estrés osmótico, trastornos neuropsiquiátricos (como ataques de pánico) y la modulación de los procesos de dependencia y abstinencia, así como funciones controlado por el dopaminérgico, serotoninérgico y sistemas opioides. (PATEL, S. y otros. 2011)

## **1.3 FITOTERAPIA**

La fitoterapia es la ciencia que estudia la utilización de las plantas con propiedades medicinales o sus derivados con finalidad terapéutica para mejorar la salud.

La herbolaria es el conjunto de conocimientos relativos a las propiedades de plantas curativas. La Organización Mundial de la Salud (OMS) reconoce el valor de esta práctica terapéutica como un recurso inocuo y eficaz que puede ser aceptado por autoridades nacionales en los esquemas públicos de salud, además; estima que el 80% de los habitantes del mundo actual confía principalmente en las medicinas tradicionales para resolver los problemas básicos de Salud, por lo tanto apoya el uso adecuado de medicamentos a base de plantas y promueve el uso de los recursos que se han demostrado ser seguros y eficaces. Algunas plantas medicinales han resistido la prueba científica, pero otros simplemente son utilizados por razones tradicionales para proteger, restaurar o mejorar la salud. La mayoría

de las plantas medicinales todavía necesita ser estudiada científicamente; a pesar de la experiencia obtenida de su uso tradicional en los últimos años, no debe ser ignorada.

Simplemente por este hecho no hay que menospreciar el valor medicinal de las plantas, aunque tampoco podemos pensar que por tratarse de terapias o remedios naturales, carecen de cierta toxicidad, en especial porque contienen principios activos que pueden provocar efectos indeseables si no son usadas de forma correcta. (FALCÓN, F. 2012) (PALLO, M. 2012)

Muchos de los preparados a base de hierbas o plantas medicinales en sí pueden llegar a resultar una buena solución para pequeños problemas de salud. Si no se tienen unos conocimientos adecuados, es necesario informarse de todas las propiedades, beneficios y virtudes de aquella planta que se vaya a utilizar, pero teniendo siempre en cuenta las dosis correctas para que sólo se obtenga de las mismas, las propiedades que se desean.

La fitoterapia utiliza por tanto, fitofármacos y principios activos aislados de las plantas. Estos productos deberán ser convenientemente preparados, dándoles la forma farmacéutica más adecuada para su administración al paciente. (PALLO, M. 2012)

### 1.3.1 PRINCIPIOS ACTIVOS DE PLANTAS MEDICINALES

En el mundo vegetal es frecuente, que sólo una parte de la planta sea en la que radica su actividad farmacológica, y por tanto la que determina que una simple especie botánica adquiera el rango de planta medicinal. Puede tratarse de la raíz, de la corteza del tronco o de las hojas de un árbol o arbusto. En otras ocasiones la actividad de la planta se localiza en las semillas, las flores, los frutos, la parte aérea de la planta, o en lo que se denomina “sumidad”

Se considera el término droga como cada una de estas partes activas del vegetal responsables de su utilización en terapéutica, siendo los principios activos aquellas sustancias, de composición química establecida, responsables de la acción farmacológica de

las drogas, siendo en buena parte de los casos los verdaderos compuestos utilizados en terapéutica, o al menos los que hacen justificable el empleo de muchas plantas medicinales.

La mayoría de los principios activos que se obtienen de las plantas medicinales proceden del metabolismo secundario. Se encuentran en las drogas en porcentaje raramente superior al 1%, son por ello moléculas poco abundantes e inmersas en células vegetales junto a otras moléculas, muchas de las cuales presentan estructuras muy relacionadas.

En lo que se refiere estrictamente a la fitoterapia, la acción farmacológica de una determinada planta medicinal depende en la mayoría de los casos de varios principios activos y no solo de uno aislado, existiendo sinergismos y acciones coadyuvantes entre ellos, de modo que por lo general resulta más adecuada la acción de toda la planta en su conjunto que la de un determinado compuesto. (FALCÓN, F. 2012)

#### **1.4 FAMILIA *Passifloraceae***

El género *Passiflora* consta de 500 especies que se encuentran en su mayoría en las regiones cálidas y tropicales. *Passiflora* viene de la palabra latina "Passio", que fue descubierto por primera vez por los descubridores españoles en 1529 y fue descrito como un símbolo de "la pasión de Cristo". Esta planta se utiliza ampliamente en la medicina tradicional en el oeste de la India, México, Holanda, América del Sur, Italia y Argentina para el tratamiento de la bronquitis, el asma, la tos ferina, la neumonía y el insomnio. También tiene efecto ansiolítico, sedante, antiespasmódico y un leve efecto antimicrobiano, los mismos que se conocen desde hace mucho tiempo. Una de las especies de este género nombrada como *Passiflora incarnata* es la más popular y la de mayor potencial médico a diferencia de otras especies, en Europa y en la medicina homeopática; se utiliza para tratar el insomnio y la ansiedad. Sólo para fines contra la ansiedad, se deben utilizar las partes aéreas de la planta pasiflora. Las raíces no tienen efecto ansiolítico. Las hojas y los tallos son ideales en productos de pasiflora ya que se vuelven más potentes al contener solo estas partes. Los

productos que contienen toda la planta pueden requerir dosis más altas para efectos terapéuticos. (LADER, M. y otros. 2009) (NASSIRI, M. y otros. 2007)

El género *Passiflora* contiene varios compuestos que incluyen alcaloides, fenoles, flavonoides y compuestos cianogénicos glicosilo. En algunos experimentos, concluyen que tiene efectos potenciales para tratamiento de algunas enfermedades como la ansiedad, insomnio, trastorno de hiperactividad, déficit de atención, la hipertensión y el cáncer. Además, un estudio reciente mostró que las hojas de la misma tenían efectos anticonvulsivos. (GARCÍA, C. y otros. 2009)

Los trastornos de ansiedad, como el trastorno de ansiedad generalizada (TAG), trastorno de pánico, trastorno obsesivo-compulsivo y trastorno de estrés postraumático, son los problemas de salud mental más comunes que se observan por los médicos. Más de la mitad de las personas con TA buscan alivio de terapias complementarias y alternativas, incluyendo técnicas de relajación, la homeopatía y la medicina botánica. (KAMALDEEP, D. y otros. 2001)

En el tratamiento del trastorno de ansiedad generalizada, pasiflora se ha encontrado para ser tan eficaz como oxazepam (una benzodiazepina). En un estudio pionero, los investigadores encontraron que más de cuatro semanas, tanto la pasiflora y oxazepam fueron igualmente eficaces en el manejo de los síntomas de ansiedad. La pasiflora se considera superior como una terapia en comparación con el oxazepam, debido a una menor incidencia de efectos secundarios negativos, principalmente el deterioro del rendimiento en el trabajo. (GARCÍA, C. y otros. 2009)

Estudios de pacientes sometidos a procedimientos quirúrgicos que provocan ansiedad también han demostrado los efectos ansiolíticos de la pasiflora. Pacientes sometidos a cirugía para sanar hernias se habían reducido las puntuaciones de ansiedad 10 minutos y 30 minutos después de recibir una dosis oral única de pasiflora. Ellos no experimentaron efectos secundarios sedantes, que es una consideración importante en una situación prequirúrgica.

Efectos contra la ansiedad fueron similares visto en un estudio usando la pasiflora antes de la anestesia espinal, una vez más, sin aumento de sedación.

Una investigación apunta a un posible mecanismo de acción para la reducción de la ansiedad por efectos de la pasiflora. El ácido gamma-aminobutírico de neurotransmisores (GABA) se ha implicado en la progresión de los trastornos de ansiedad y ha sido el foco de los tratamientos farmacéuticos tales como los medicamentos de benzodiazepina. Los estudios en animales han demostrado que la pasiflora es capaz de unirse a los receptores de GABA y de modular la acción de este neurotransmisor calmante. Esto puede ser debido al contenido de GABA en la familia *Passifloraceae*, teniendo el nivel más alto de 21 plantas examinadas, o a la vez, por otro compuesto que encuentran en la pasiflora como el flavonoide crisina. (KAMALDEEP, D. y otros. 2001)

En relación con las benzodiazepinas, la pasiflora no tiene el efecto secundario negativo en el uso tanto a corto como a largo plazo. Las benzodiazepinas pueden conducir a sedación y la confusión significativa durante el día, y han sido asociadas con la abstinencia, síntoma que se presenta tras la interrupción súbita. La Administración de Drogas y Alimentos (FDA) clasifica a la pasiflora como "generalmente considerados como seguros", y los estudios de la pasiflora en humanos parece que es bien tolerado y sin efectos secundarios significativos, tales como somnolencia o alteraciones motoras. (KOLE, C. 2011)

Pasiflora ofrece una alternativa importante en el tratamiento de trastornos de ansiedad, una condición por la cual muchas personas están buscando opciones de un tratamiento no farmacológico. Se necesita más investigación, pero su uso tradicional y los estudios preliminares son abrumadoramente positivos.

Además, este género brinda una manera de afectar al receptor GABA en el cerebro y mejorar el sueño sin los efectos secundarios negativos como el desarrollo de tolerancia. GABA es un prominente ingrediente de las partes aéreas de la planta de la pasionaria. No sólo por contener una alta cantidad de GABA, sino también por ser capaz de unirse a los receptores

de GABA generando una supresión del estado hiperexcitación asociada con el insomnio. Se han realizado pocos estudios evaluando la pasiflora para el insomnio específicamente.

Herbolarios tradicionales sugieren que la pasiflora es el más indicado para el alivio del insomnio asociado con inquietud nerviosa, ansiedad, o mente sobre-activa que previene la iniciación del sueño. El impacto que exhibe pasiflora sobre el sistema GABA del cerebro sugiere que es prometedora como una ayuda no adictiva para las personas con insomnio, sin la sedación que producen las benzodiazepinas.

El uso de la pasiflora se utiliza para tratar la adicción y abstinencia de sustancias, otra enfermedad asociada con la ansiedad y el insomnio. (KAMALDEEP, D. y otros. 2001)

Está demostrado que la Pasiflora es eficaz para el tratamiento de la desintoxicación y ayuda a las fases de abstinencia en el tratamiento de la adicción. Como una terapia natural no adictivo, pasiflora ofrece una alternativa segura a algunos de los productos farmacéuticos utilizados actualmente para estos propósitos.

Las benzoflavonas de la pasiflora también se han utilizados en estudios con animales de desintoxicación de alcohol. En tanto la administración aguda y crónica de la pasiflora, disminuye significativamente la expresión de los efectos de la abstinencia y el comportamiento de ansiedad. Es decir, la pasiflora tiene un gran potencial en el tratamiento de diversos problemas de salud incluyendo la ansiedad, el insomnio y la adicción. (PATEL, S. y otros. 2010)

#### 1.4.1 CONSIDERACIONES DE SEGURIDAD

La pasiflora se clasifica como "generalmente considerados como seguros" por la FDA. Pasiflora no interactúa con la mayoría de los medicamentos. Teóricamente, podría interactuar con los medicamentos y suplementos con propiedades sedantes, y mejorar sus efectos y los efectos secundarios potenciales.

#### 1.4.2 POBLACIONES ESPECIALES

La pasiflora puede ser peligroso durante el embarazo debido al potencial de útero-estimulante efectos de algunos constituyentes de pasiflora, pero es seguro para su uso en niños y adolescentes en las dosis apropiadas para cada edad. En los ancianos la pasiflora también es seguro para su uso, y puede ser una mejor opción que benzodiazepinas, que tienen un mayor riesgo de caídas en ellos.

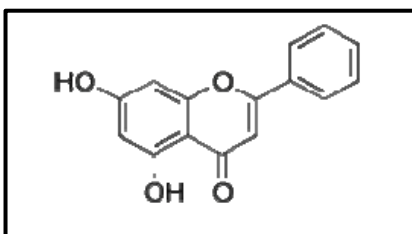
En general, la pasiflora es una planta muy segura, con gran potencial terapéutico para el tratamiento de múltiples deficiencias del sistema nervioso, especialmente la ansiedad, el insomnio, y la adicción. La capacidad de utilizar la pasiflora en diversas poblaciones con medicamentos farmacéuticos hace de esta medicina botánica un tratamiento valioso como opción para tres problemas de salud prevalentes. (KAMALDEEP, D. y otros. 2001)

#### 1.4.3 COMPONENTES BIOACTIVOS

El género *Passiflora* puede ser adecuado para el tamizado de moléculas bioactivas, ya que el uso etnobotánico, la información taxonómica, y la observación de la interacción de las plantas con su entorno se han sugerido como criterios de selección de fuentes potenciales de moléculas naturales de relevancia farmacológica. Investigación fitoquímica de *P. edulis* y *P. incarnata* y el análisis ocasional en otras especies reveló que los miembros de este género contienen alcaloides, fenoles, compuestos cianogénicos y flavonoides glicosilo. También se ha reportado la actividad farmacológica de algunos de estos compuestos, tales como flavonoides crisina y alcaloides harmano en *P. incarnata* que tiene propiedades de aromataza debido a la presencia de dos compuestos flavonoides: crisina y resto benzoflavona siendo este último más potente. Se han encontrado muchas especies que contienen alcaloides harmala beta-carbolina. La mayoría de los componentes activos en esta planta son flavonas C-glicosil sobre la base de la apigenina y luteolina, mientras que los alcaloides harmano se encuentran en cantidades traza. Varios flavonoides han sido aislados de *P. incarnata* L: la crisina y apigenina, junto con orientina, isoorientina, vitexina e isovitexina. Las mayores

acumulaciones de flavonoides en *P. incarnata* se encuentran en las hojas entre las etapas de pre-floración y floración de la planta. (INGALE, A. y HIVRALE, A. 2010)

#### 1.4.3.1 Crisina: $C_{15}H_{10}O_4$ (5,7 dihidroxiflavona)

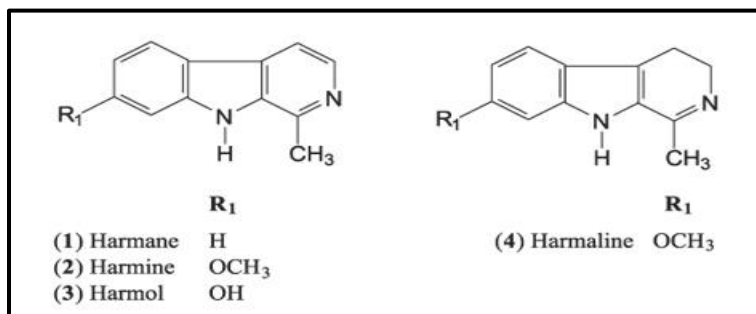


FUENTE: [http://www.academicjournals.org/article/article1380125484\\_Ingale%20and%20Hivrale.pdf](http://www.academicjournals.org/article/article1380125484_Ingale%20and%20Hivrale.pdf)

**FIGURA No. 4. CRISINA**

Crisina es una flavona natural químicamente extraída de la flor azul de la pasión (*Passiflora caerulea*). Estudios in vivo con roedores, se encontró a la crisina con efecto ansiolítico. En la medicina a base de hierbas, se recomienda como remedio para ansiedad, pero no hay datos disponibles del control en humanos. Crisina exhibió un efecto ansiolítico, que se mostró por un aumento locomotor en la actividad en ratas cuando se inyecta a 1 mg/kg. Este efecto fue vinculado a receptores benzodiazepínicos de GABA en el cerebro debido a que el efecto ansiolítico fue bloqueado por una inyección de flumazenil, que es un antagonista de benzodiacepina. Crisina y apigenina han sido demostrados que inhiben el crecimiento de células de carcinoma de mama, células de cáncer de tiroides y los tumores de próstata. La apigenina es considerado anti-mutagénica, ya que reduce los efectos mutágenos en ratas.

#### 1.4.3.2 Alcaloides tipo harmano



FUENTE: [http://www.scielo.br/scielo.php?pid=S0103-50532014000800019&script=sci\\_arttext](http://www.scielo.br/scielo.php?pid=S0103-50532014000800019&script=sci_arttext)

**FIGURA No. 5. ALCALOIDES TIPO HARMANO  
REPORTADOS EN LA FAMILIA *Passifloraceae***



La familia pasionaria contiene pequeñas cantidades de alcaloides harmala, harmano (passiflorina), y, posiblemente, harmina (telepatina), harmalina, harmol, y harmalol. La presencia de los cuatro últimos en *P. incarnata* se discute, ya que están contenidos en sólo cantidades muy pequeñas. (0,01% o menos). (INGALE, A. y HIVRALE, A. 2010)

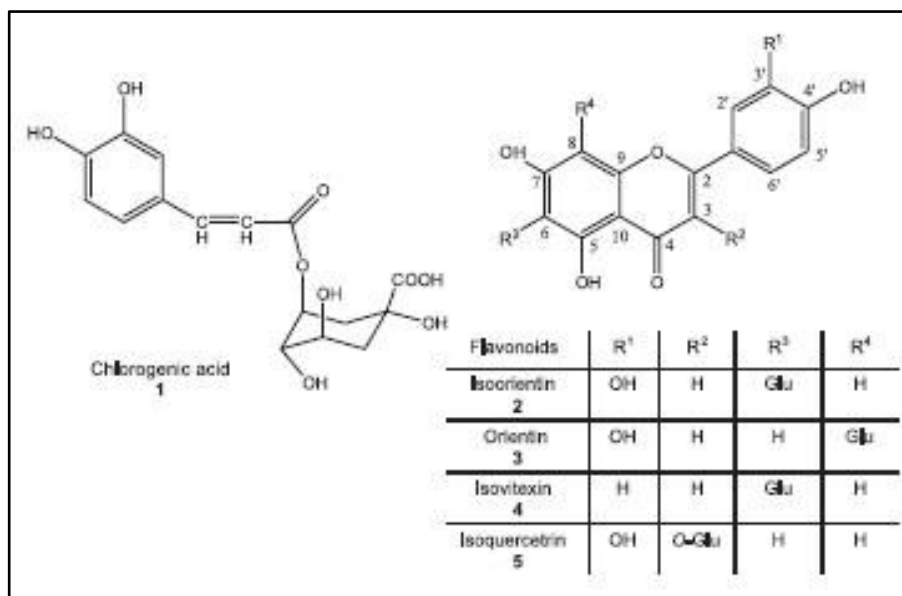
Además, han sido identificados como estimulantes e inhibidores de la monoamina oxidasa que darían antidepresivo en lugar de efectos sedantes. Se utiliza terapéuticamente como un estimulante en lugar de un sedante. Los alcaloides de tipo harmano, que es el principio activo en pasiflora, también podrían ser una causa de preocupación para la toxicidad renal, ya que estas sustancias son tóxicas para los riñones.

Los extractos de las partes aéreas de *P. incarnata* L. contienen las beta-carbolinas: harmano, Hamina, hamalina, harmol, y harmalol, junto con un compuesto de aroma, maltol. Los beta-carbolinas, como los de *P. incarnata* L. inducen el consumo voluntario de etanol en ratas. El harmano ha sido identificado en la cerveza, el vino y el humo del cigarrillo. Se ha encontrado que los beta-carbolinas para prevenir el daño de las neuronas a las mitocondrias de cerebro de ratones inducida por dopamina, al actuar como un antioxidante y los radicales hidroxilo. El harmano y compuestos relacionados son mutagénicos y se han vuelto más mutagénico. El harmano actúa como un vasodilatador (algo que reduce la inflamación o edema), funciona mediante la liberación de GABA, serotonina y noradrenalina. (INGALE, A. y HIVRALE, A. 2010) (KAMALDEEP, D. y otros. 2001)

#### **1.4.3.3 Glicósidos**

Los flavonoides Glicosilados, constituyen la clase principal de flavonoides, están presentes en grandes cantidades en la mayoría de las especies *Passiflora* estudiadas hasta la actualidad, siendo el componente principal en varios de ellos. Estos compuestos han demostrado ejercer actividades mediadas en el Sistema Nervioso Central (SNC), en particular como sedantes-hipnóticos, ansiolíticos y analgésicos.

Los glucósidos son moléculas en las que un azúcar está unido a un resto que no son hidratos de carbono, por lo general es una pequeña molécula orgánica. Los glucósidos desempeñan numerosos papeles importantes en los organismos vivos. Muchas plantas almacenan los productos químicos en forma de glucósidos inactivos que se puede activar mediante hidrólisis enzimática. Hay muchos tipos de glucósidos están presentes en la flor de la pasión, como la apigenina, homoorientina, 7-Isoorientina, isoshaftosido, isovitexina, kaempferol, lucenina, lutrolina, n-orientina, passiflorina (llamado así por el género), la quercetina, rutina, saponaretina, shaftosido, vicenina y vitexina.



FUENTE: [http://www.scielo.br/scielo.php?pid=S0103-50532011000600014&script=sci\\_arttext](http://www.scielo.br/scielo.php?pid=S0103-50532011000600014&script=sci_arttext)

**FIGURA No. 6. COMPUESTOS GLICOSILADOS PRESENTES EN LA FAMILIA *Passifloraceae***

#### 1.4.3.4 Otros compuestos orgánicos

Flor de la pasión contiene muchos alcaloides, flavonoides, así como muchos compuestos orgánicos tales como ácidos orgánicos.

Este género es rico en ácido fórmico, butírico, linoleico, linolénico, málico, mirístico, oleico y palmítico así como compuestos fenólicos, y el ácido alfa-amino alanina.

Algunas especies contienen éster tal como butirato de etilo, caproato de etilo, n-hexilo butirato y caproato que dan los frutos su sabor y olor apetitoso n-hexilo. Azúcares, contenidas principalmente en la fruta, son en su mayoría D-fructosa, D-glucosa y rafinosa. Entre las enzimas, *Passiflora* se encontró que era rico en catalasa, pectina esterasa de metilo y fenolasa. Aparte de glucósidos, fenoles y alcaloides, varios fito-componentes diversos que también se informó que en *P. edulis* incluyen pectinas. Las fracciones de pectina contienen principalmente azúcares. (INGALE, A. y HIVRALE, A. 2010)

### 1.5 BADEA (*Passiflora quadrangularis*)



FUENTE: Rea. V

FOTOGRAFÍA No. 1 FLOR DE BADEA  
(*Passiflora quadrangularis*)

#### 1.5.1 DIVISIÓN TAXONÓMICA

**Reino:** *Plantae*

**División:** *Angiospermae*

**Clase:** *Magnoliopsida*

**Subclase:** *Dilleniidae*

**Orden:** *Violales*

**Familia:** *Passifloraceae*

**Género:** *Passiflora*

**Especie:** *P. quadrangularis*

### 1.5.2 ORIGEN Y DISTRIBUCIÓN

La badea (*Passiflora quadrangularis*) llamada también como pasionaria púrpura es una especie trepadora de la familia *Passifloraceae*. Su habitat se da en las zonas tropicales y subtropicales. Ciertos expertos han situado su zona oriunda en el norte de América del Sur, específicamente en México, Perú, Brasil y las islas del Caribe, en donde existen especies afines; pero aun así debido a la poca información existente no está muy clara la zona en donde se origina. (DUQUE, C. y MORALES, A. 2005)

En el litoral ecuatoriano, esta planta es originaria propiamente de la provincia de El Oro, es cultivada especialmente en terrenos comprendidos entre los 0 y los 1000 metros sobre el nivel del mar siendo su zona de cultivo el bosque seco húmedo tropical. Para su adecuado crecimiento requiere temperaturas entre los 20 y los 24 °C, suelo de textura media, de fácil drenaje y permeabilidad, abundante materia orgánica y un pH que oscile entre 5.5 y 6.5. (LEON, J. 2000) (LIM, T. 2012)

### 1.5.3 CARACTERÍSTICAS BOTÁNICAS

**Raíz:** La raíz cuando apenas empieza a crecer es fibrosa pero al ir envejeciendo, esta se va engrosando. Abarca un gran volumen en el suelo, razón por la cual la planta necesita altos niveles de fertilidad para alcanzar su potencial de productividad, si las raíces de la badea se utilizan crudas para el consumo humano, son alucinógenos y hasta pueden llegar hacer venenosos, ya que tienen un compuesto conocido como pasiflorina. Solo se pueden consumir las raíces engrosadas de plantas adultas pero luego de hervirlas. (LIM, T. 2012)

**Tallo:** El tallo de la *P. quadrangularis* como su nombre lo indica es cuadrangular y su superficie es lisa, se endurece en la base y llega a medir entre 5 y 50 metros de largo, se caracteriza por su rápido crecimiento siendo trepador, tosco, fuerte y grueso. Tiene zarcillos hasta de 30 cm de largo que son fuertes y enrollados en espiral, lo que le permite fijarse a

soportes, estos zarcillos se van envolviendo alrededor de superficies que tocan, lo cual es una respuesta a un estímulo de contacto.

**Hojas:** Las hojas de esta planta son abundantes, cada hoja es de color verde claro, tiene forma oval a lanceolada de 10 a 30 cm de largo y una anchura de 8 a 15 cm. La base es dentada en algunas hojas y en otras no. En el envés sobresale una nervadura de la lámina o limbo, además poseen pecíolos glandulados y ápices puntiagudos o redondeados.

**Flores:** Son olorosas, tienen un diámetro de 8 a 12cm, en la base llevan 3 brácteas verdosas; los sépalos son carnosos, de color verdes en la parte externa y blancos o rosados en la interna; tienen los pétalos rojos en el lado interno y rosados o blancos en el externo. La corona se forma de 5 o 6 ciclos de apéndices, 3 internos y 2 externos que llegan a medir hasta 5 cm de longitud, los cuales en su base son rosadas rojizas, en el medio lila y blancos en el ápice; Los colores llamativos de la flor son debido al contenido de pigmentos del grupo de las antocianidinas. (DUQUE, C. y MORALES, A. 2005)

**Fruto:** Alrededor del 12% de las flores producen frutos, este fruto es el más grande de todas las especies de *Passiflora*. Su forma es ovalada de 15 a 30 cm de largo de 12 a 18 cm de diámetro. El epicarpio que es la superficie es liso, brillante, textura blanda con 3 surcos poco profundos; sus extremos son redondeados, de color verde durante el crecimiento y amarillo en la madurez. El epicarpio (parte interna) es de color blanco, textura esponjosa, olorosa, ligeramente dulce y ácida; en el centro contiene las semillas.

**Semillas:** Son de color negro, textura dura, forma achatada. Sus medidas van de 1.25 cm de largo y 0.5 a 0.7 cm de ancho. El ápice es truncado y están rodeadas de una sustancia jugosa, mucilaginosa y traslucida denominada arilo. Cada fruto produce de 100 a 200 semillas. (LEON, J. 2000)

#### 1.5.4 COMPOSICIÓN QUÍMICA

**TABLA No. 2      COMPOSICIÓN QUÍMICA DE LA BADEA (*Passiflora quadrangularis*) POR 100g DE LA PORCIÓN COMESTIBLE**

	PULPA GRUESA	ARILES Y SEMILLAS
Humedad	94.4g	78.4g
Proteína	0.112g	0.299g
Grasa	0.15g	1.29g
Fibra cruda	0.7g	3.6g
Ceniza	0.41g	0.80g
Calcio	13.8mg	9.2g
Fósforo	17.1mg	39.3mg
Hierro	0.80mg	2.93mg
Caroteno	0.004mg	0.019mg
Tiamina		0.003mg
Riboflavina	0.033mg	0.120mg
Niacina	0.378mg	15.3mg
Ácido ascórbico	14.3mg	

FUENTE: <http://www.sabelotodo.org/agricultura/enredaderas/granadillareal.html>

#### 1.5.5 PROPIEDADES TERAPEÚTICAS

- La planta de *Passiflora quadrangularis* se ha utilizado para la hipertensión en la medicina tradicional. En la medicina popular brasileña, la pulpa de la fruta se utiliza como sedante para aliviar el dolor de cabeza por nerviosismo, el asma, diarrea, disentería, neurastenia e insomnio.
- Las semillas contienen un principio cardiotónico, son sedantes, y en grandes dosis, narcótico.
- La decocción de las hojas se usa como vermífugo y con el baño tatar aflicciones de la piel. Y como cataplasmas se aplican en los trastornos hepáticos. Se toma té en hojas para la presión arterial alta y la diabetes.

- La raíz se utiliza como emética, diurética, vermífuga y narcótica. Se aplica como una cataplasma con propiedad calmante cuando se encuentra en polvo y mezclada con aceite.
- El jugo fermentado se ha utilizado para la limpieza del cuerpo. La planta se utiliza en todo el Caribe como sedante y para los dolores de cabeza. (LEON, J. 2000)

### 1.5.6 COMPUESTOS TERAPÉUTICOS

Varios estudios experimentales realizados en ratones o ratas dan evidencia de las propiedades ansiolíticas, sedante, antioxidantes y antiinflamatorias de los extractos de *Passifloraceae*, propiedades farmacológicas que son característica de la especie *P. quadrangularis*.

Los principales compuestos bioactivos que se describen en la *P. quadrangularis* son los flavonoides C-glicosil (vitexina, isovitexina, orientina, isoorientina y apigenina) y alcaloides b-carbolínicos (harmano, harmina, harmalina, harmol y harmalol). Otro compuesto activo, el monoflavonoide crisina, es posiblemente responsable de los efectos ansiolíticos y anticonvulsivos en ratones. Este flavonoide es un ligando de receptores de benzodiacepina y los receptores de GABA que median procesos bioquímicos en el cuerpo.

Los compuestos posiblemente responsables de la actividad ansiolítica en la familia *Passifloraceae* son los alcaloides b-carbolínicos y el monoflavonoide crisina, según estudios realizados. (NASSIRI, M. y otros. 2007)

### 1.6 ZOPICLONA

La zopiclona, un derivado ciclopirrolona, es un hipnótico de acción corta que pertenece a una clase de química novedosa. Fue el primer compuesto que está químicamente relacionada con hipnóticos existentes. Sin embargo, su perfil farmacológico es similar a ansiolíticos de benzodiazepinas. (INSOMNIUM 7,5 ZOPLICLONA 5mg)

Sus propiedades farmacológicas son hipnótico, sedante, ansiolítico, anticonvulsivante y relajante muscular. Estos efectos están relacionados con una acción agonista específica en los receptores centrales pertenecientes a la GABAA, modulando la apertura de canales iónicos de cloruro. (ARONSON, J. 2009) (INSOMNIUM 7,5 ZOPICLONA 5mg.)

#### 1.6.1 MECANISMO DE ACCIÓN

La zopiclona es un agonista de los receptores benzodiazepínicos de tipo BZ1 (benzodiazepínicos) formando parte del complejo supramolecular ionóforo de cloruros, integrado con el receptor del ácido gamma-aminobutírico (GABA). Al final se origina un aumento de la actividad cerebral del GABA, un neurotransmisor inhibidor. La zopiclona disminuye el tiempo para que comience el sueño y disminuye la frecuencia de despertarse a mitad de la noche, con lo que mejora la calidad del sueño por las noches y del despertar de las mañanas.

Los efectos que produce el zopiclona en el electroencefalograma, se encuentran relacionados con un perfil electroencefalográfico que es diferente de las benzodiazepinas. En las personas que tienen insomnio, este compuesto reduce el estadio I, alarga el estadio II, respeta o extiende los estadios de sueño lento o profundo (III y IV) y respeta el sueño paradójico. (MONTI, J. 2010) (ZOPICLONA)

Con la utilización nocturna por largos períodos, se puede desarrollar tolerancia farmacodinámica o adaptación a varios efectos de los hipnóticos benzodiazepínicos o algún similar.

Aunque en estudios de laboratorio que abarcaron 17 pacientes, se mostró que no existe tolerancia con zopiclona en tratamientos mayores a cuatro semanas. Se han reportado varias manifestaciones de insomnio de rebote en estudios tanto clínicos como de laboratorio, seguidos a la interrupción de zopiclona. (ZOPICLONA)



### 1.6.2 FARMACOCINÉTICA

**Absorción:** La zopiclona se absorbe bien y rápidamente tras la administración oral. Su biodisponibilidad es de aproximadamente 75-80%. Tiempo para alcanzar las concentraciones plasmáticas máximas es de 1 - 2 h, la constante de velocidad de absorción es 1,3 h<sup>-1</sup> y concentración máxima en plasma después de la administración de 7,5 mg es 131 g / l. La vida media asociado con la constante de velocidad de absorción es 0,52 h. Comida rica en grasas precedente de la administración de drogas no cambia la absorción medida por el área bajo la curva, pero reduce los niveles del pico plasmático y retrasa su aparición y por lo tanto pueden retrasar la aparición de efecto del fármaco.

**Distribución:** La zopiclona se une débilmente a las proteínas plasmáticas (52-59%), la relación sangre-plasma es menos de uno, indicando que no hay captación selectiva por las células rojas de la sangre. La zopiclona se distribuye rápida y ampliamente en tejidos del cuerpo incluyendo el cerebro. En experimentos con animales, el más alto es acumulado en el músculo, pulmón, hígado, tejido adiposo y el riñón. El volumen de distribución es de 91,8 a 104,6 litros. Semivida plasmática terminal en individuos sanos es en promedio 5 horas, en el rango de 3.5 a 6.5 h. En sujetos de edad avanzada que aumenta la vida media, siendo una media de 7 h. En adultos sanos, el fármaco no se acumula en dosis repetidas. (INSOMNIUM 7,5 ZOPLICLONA 5mg)

**Metabolismo:** La zopiclona se metaboliza ampliamente en el hígado. Los metabolitos son formados por N-desmetilación y N-oxidación; Los principales metabolitos en plasma son zopiclona-N-óxido y N-desmetil zopiclona. Este último es un metabolito activo. Descarboxilación también juega un papel. Enzimas hepáticas que juegan el papel más importante en el metabolismo de la zopiclona son CYP3A4 y CYP2E1.

**Excreción:** La zopiclona es principalmente (80%) excretada por los riñones a través de la orina, y en menor proporción con las heces (16%). El mal sabor amargo se produce por la excreción de una pequeña cantidad por saliva. Su semivida de eliminación es de 3,5-6 h

(zopiclona); 5,8 h (zopiclona-N-óxido); 8,5 h (insuficiencia hepática); y 7 h (edad avanzada). (MONTI, J. y otros. 2010) (INSOMNIUM 7,5 ZOPLICLONA 5mg)

### 1.6.3 CONTRAINDICACIONES

- **Alergia:** A benzodicepinas.
- **Miastenia grave:** La actividad relajante muscular de las benzodicepinas puede producir un empeoramiento de la enfermedad, con aumento de la fatiga muscular.
- **Insuficiencia respiratoria severa:** Su efecto relajante muscular puede potenciar la depresión respiratoria.
- **Glaucoma en ángulo estrecho:** El posible efecto anticolinérgico de la benzodicepina puede aumentar la presión intraocular y agravar la enfermedad.
- **Apnea del sueño:** Puede producirse una exacerbación.
- **Insuficiencia hepática severa:** Debido al riesgo asociado de encefalopatía.
- **Intoxicación etílica aguda, coma o síncope:** Debido a la depresión aditiva sobre el sistema nervioso central. (ARONSON, J. 2009)

### 1.6.4 EFECTOS SECUNDARIOS

- Un síndrome de abstinencia se ha informado sobre la suspensión de la zopiclona. Los síntomas de abstinencia varían y puede incluir: insomnio de rebote, ansiedad, temblor, sudoración, agitación, confusión, dolor de cabeza, palpitaciones, taquicardia, delirio, pesadillas, alucinaciones, ataques de pánico, dolores / calambres musculares, disturbios y la irritabilidad gastrointestinales. En casos muy raros pueden ocurrir convulsiones.
- El efecto secundario más frecuente es un sabor amargo o metálico en la boca.
- La somnolencia puede ocurrir a veces y, más raramente, incoordinación; los pacientes deben ser advertidos sobre conducir o manejar maquinaria hasta que se haya establecido que su rendimiento no se ve afectado.

- Otros efectos secundarios incluyen boca seca, dolores de cabeza y fatiga. (DOS SANTOS, K. y otros. 2006) (ESTRADA, R. y otros. 2012)

Los menos comunes incluyen:

- Gastrointestinal: ardor de estómago, estreñimiento, diarrea, náuseas, lengua sucia, mal aliento, la anorexia o la aumento del apetito, vómitos, dolores epigástricos.
- Sistema nervioso: agitación, ansiedad, pérdida de memoria incluyendo la amnesia retrógrada, confusión, mareos, debilidad, somnolencia, astenia, sensación de embriaguez, euforia, depresión, hipotonía, el habla desorden, alucinaciones, trastornos de conducta, agresividad, temblor, insomnio de rebote, pesadillas.
- Cardiovasculares: palpitaciones, sobre todo en pacientes de edad avanzada.
- Dermatológicas: urticaria, hormigueo.
- Otros: visión borrosa, micción alterada, impotencia, insuficiencia de la eyaculación. (ARONSON, J. 2009)

### **1.7 *Passiflora incarnata***

Es una planta herbácea, perenne, de la familia de la *Passifloraceas*. Rastrera y trepadora, sus tallos cilíndricos y lampiños, son ramosos y leñosos. Llega a alcanzar los 9 metros de longitud, trepando y enredándose en los cuerpos vecinos. Suelen terminar en una especie de zarcillos espirales con lo que consiguen asirse a casi cualquier superficie para conseguir ocuparla casi por completo. Las hojas son redondas partidas en cinco gajos o tiras. Las flores son grandes, redondas, planas y de color azul o liliáceo; aparece individualmente y puede llegar a los 10cm de diámetro en las variedades cultivadas. (KUMAR, S. 2002)

#### **1.7.1 COMPONENTES PRINCIPALES**

Los principios activos de la droga son la harmana (beta-carbolina), un alcaloide indólico de estructura tricíclica; en menor concentración posee otros alcaloides: harmalina, harmina, harmol y harmalol. Contiene además los glicósidos saperanina, vitoxina, homoorientina y flavonoides (apigenina, luteolina, quercitina, kaempferol, saponaretina, saponarina, orientina

y rutina), cumarinas, quinonas, ácido gálico, ácidos palmítico, mirístico, oleico, lenélico, linolénico; alcohol melísico y glucosa. (NASSIRI, M. y otros. 2007)

#### 1.7.2 INDICACIONES

- Como sedante natural del sistema nervioso central, sin crear efectos secundarios indeseables ni dependencia.
- Para evitar o reducir los síntomas causados por ansiedad, estrés, nerviosismo.
- Trastornos del sueño de origen nervioso: insomnio, despertares nocturnos.
- Mujeres con trastornos hormonales: climaterio, menopausia.
- Procesos de deshabitación en personas que están tratando de apartarse del alcohol, de las drogas, del tabaco.
- Relajante para evitar estrés en presentaciones públicas, entrevistas, discusiones.

#### 1.7.3 POSOLOGÍA

La dosis recomendada para adultos cuando se administra como sedante en infusión es de 1 a 2,5 g en 150 ml de agua, tres/cuatro veces al día. Se considera carente de toxicidad, contraindicaciones o efectos adversos. No obstante, se ha reportado algún caso de reacción alérgica y se debe tener precaución si se va a conducir o manejar algún tipo de maquinaria pesada. Aunque no se encuentran datos clínicos sobre interacciones con fármacos sedantes de síntesis, no se recomienda su empleo concomitante con los mismos, como, por ejemplo, con benzodiazepinas. (PATEL, S. y otros. 2010)

#### 1.7.4 ADVERTENCIAS

Ante la falta de datos de su empleo durante el embarazo y lactancia, se recomienda evitar su uso sin control facultativo. Igualmente, debido a la carencia de estudios científicos, no se recomienda la utilización de pasiflora en niños menores de 12 años.

#### 1.7.5 INTERACCIONES

Se ha señalado el caso de un paciente en tratamiento con lorazepam, manifestó vértigo, palpitaciones y una intensa somnolencia, después de la ingestión concomitante de un medicamento fitoterápico con valeriana y *Passiflora incarnata*. (PATEL, S. y otros. 2011)

#### 1.7.6 EFECTOS SECUNDARIOS

No se conocen en la literatura indicaciones de efectos secundarios, salvo eventuales fenómenos de carácter individual. (KAMALDEEP, D. y otros. 2001)

### 1.8 IMPORTANCIA DE LA EXPERIMENTACIÓN ANIMAL

En el mundo actual la utilización de los animales de experimentación es fundamental para que las ciencias biomédicas se desarrollen. Esto se da con la finalidad de encontrar las respuestas que la humanidad requiere frente a problemas sanitarios, de control de la toxicidad ambiental, de ciencia básica, de control alimentario o necesidades en docencia, que prácticamente es imposible contestar si no se cuenta con los animales de experimentación.

Los modelos animales de enfermedades humanas se han utilizado en diferentes áreas de la investigación, desde hace muchos años, formando uno de los pasos esenciales en la biomedicina. Son indispensables para proyectos de investigación, pruebas diagnósticas y terapéuticas, así como también en los controles de productos farmacológicos. Sin embargo, este avance, tiene obligatoriamente que cumplir normas éticas. En esa línea, la Ciencia de los Animales de Laboratorio fue establecida para que sirva de ayuda a la sociedad científica a mejorar todos los aspectos que se refiere a la experimentación animal. (MOMOX, L. 2009)

#### 1.8.1 NORMAS ÉTICAS EN EL MANEJO DE LOS ANIMALES

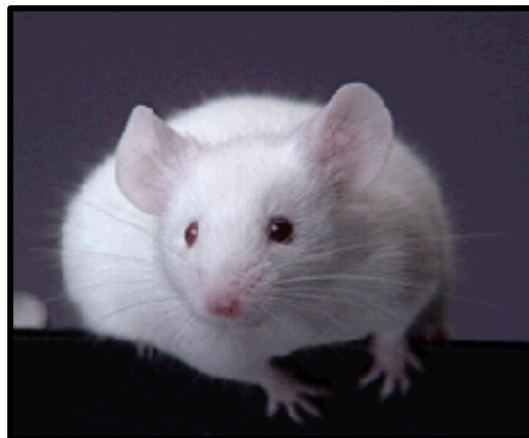
- Tratarlos humanamente

- Reducir al mínimo el dolor y la incomodidad.
- Evitar el sufrimiento innecesario
- Manipularlos adecuadamente, firme pero con suavidad, para evitar desencadenar reacciones agresivas hacia el experimentador.
- Evitar su uso innecesario. (RODRÍGUEZ, E. 2007)

Las normas en las que se basan los principios éticos en la investigación con animales son las tres “Rs”: **Reducir** el uso de animales y las causas de dolor y de estrés, los proyectos de investigación que requieren el uso de animales de laboratorio deben ser realizados con el número mínimo necesario de animales que permitan obtener resultados científicamente válidos. **Reemplazar** siempre los procedimientos in vivo (uso de animales vivos) por métodos alternativos y **Refinar** los procedimientos para realizar los experimentos, con el fin de garantizar el bienestar animal. (MOMOX, L. 2009) (RODRÍGUEZ, E. 2007)

### 1.9 RATÓN DE LABORATORIO (*Mus musculus*)

Por ser un mamífero, el ratón (*Mus musculus*) es desde el punto de vista genético, conductual y fisiológico, más similar a los seres humanos que otros organismos lo que le convierte en el modelo de elección para muchos estudios. (PEREIRA, C. y VILEGAS, J. 2000)



FUENTE: REA. V

FOTOGRAFÍA No. 2 RATÓN *Mus musculus*.

### 1.9.1 TAXONOMÍA

**Clase:** *Mamalia*

**Orden:** *Rodentia*

**Familia:** *Muridae*

**Género:** *Mus*

**Especie:** *musculus*

### 1.9.2 CARACTERÍSTICAS GENERALES DEL RATÓN

Es un mamífero de sangre caliente, de hábitos nocturnos y de comportamiento influenciado por feromonas. La adaptación del ratón es variada, va desde zonas frías hasta regiones tropicales, pero generalmente las especies tienen preferencia a ambientes más secos que húmedos.

El tamaño de un ratón adulto varía entre 12 a 15 cm desde la punta de la nariz a la punta de la cola, siendo de igual tamaño el cuerpo y la cola. Pesa 30g aproximadamente y cuando recién nace tiene un peso aproximado de 1 a 2g ganando peso durante la lactancia. Su vida útil es de 10 a 12 meses y puede obtener de 8 a 10 camadas. Su sentido del olfato es muy desarrollado, su visión es poca y no pueden percibir los colores, son muy dóciles a excepción de algunas cepas exocriadas que mantienen su agresividad.

Debido al pequeño tamaño que poseen son muy susceptibles a cambios ambientales, ya que una pequeña variación de 2 a 3°C, puede afectar su temperatura corporal y modificar su fisiología. Necesitan de buena ventilación para que los niveles de oxígeno que requiere el ratón se mantengan. (PIERCE, B. 2009) (RODRÍGUEZ, E. 2007)

La comida y el agua deben ser proporcionales en relación al peso corporal del animal, exento de microorganismos, para que los animales de experimentación puedan ejercer sus funciones fisiológicas correctas. (PIERCE, B. 2009)

### 1.9.3 COMPORTAMIENTO DEL RATÓN

El ratón *Mus musculus* es sociable y logra mantenerse en grupos sin problemas, pero estos grupos deben ser formados inmediatamente luego del destete, pero a pesar de esto, existen machos que muestran agresividad generalmente entre la séptima y décima semana de edad. Esto no ocurre con las hembras que por lo general no pelean aun cuando se les hayan unido siendo ya adultas. Los ratones son muy activos durante la noche, ya que evitan las luces intensas. Casi siempre hay un macho que domina a los otros que forman un grupo y este puede llegar a ser muy agresivo. (RODRÍGUEZ, E. 2007)

El mayor consumo de agua y comida lo realizan en las horas de oscuridad y generalmente cada ratón divide su jaula en áreas específicas para dormir, comer, orinar y defecar. Las hembras parturientas construyen un nido y pertenecen mucho tiempo cerca de él o sobre las crías. (REYES, A. 2010)

### 1.9.4 PRUEBAS PARA EVALUAR LA ACTIVIDAD ANSIOLÍTICA EN RATONES

Uno de los recursos científicos para corroborar el sustento biológico del efecto de la medicina tradicional, es recurrir al uso de pruebas en modelos animales sensibles de manifestar modificaciones de conducta en el sujeto de estudio, al administrarle sustancias con efecto ansiolítico. Durante los últimos 50 años, se ha desarrollado un gran número de pruebas en animales para identificar compuestos que potencialmente tienen actividad ansiolítica.

Asimismo, se han hecho utilizando agonistas, antagonistas o ambos, de receptores de los sistemas de neurotransmisores que participan en este proceso, para identificar el mecanismo neuronal por el cual logran este efecto.

El utilizar modelos de ansiedad con ratones, ofrece la ventaja de ensayar en ellos diversas técnicas experimentales que en los seres humanos no sería posible. Cuando se exploran extractos que se extraen de los diferentes órganos de las plantas, por lo regular dichas



sustancias se obtienen en cantidades pequeñas y el utilizar ratones permite el óptimo empleo de este recurso. (BONILLA, J. 2013)

#### **1.9.4.1 Pruebas condicionas y no condicionadas**

Las pruebas en roedores se pueden clasificar en condicionadas y no condicionadas. Las primeras requieren necesariamente del entrenamiento exhaustivo de los animales, que son expuestos a estímulos no habituales para determinar efectos sobre la memoria/ aprendizaje, el apetito o la función perceptual.

Por el contrario, las pruebas no condicionadas no requieren de entrenamiento, por lo que son menos sensibles a procesos motivacionales y se basan en respuestas espontáneas de la conducta del ratón; éstas han permitido el desarrollo de una serie de paradigmas basados en la observación de una variedad de conductas del roedor y la mayoría de los procedimientos conductuales para el estudio farmacológico de la ansiedad se basan en este tipo de pruebas.

Entre las pruebas de mayor uso se encuentran: la de campo abierto, laberinto elevado, de la caja luz/oscuridad, de choque/enterramiento, de enterramiento de canicas y la plataforma agujereada. (BONILLA, J. 2013) (KAMENETZKY, G. 2011)

## **CAPÍTULO II**

### **2. PARTE EXPERIMENTAL**

#### **2.1 LUGAR DE INVESTIGACIÓN**

El presente trabajo de investigación se llevó a cabo en la Escuela Superior Politécnica de Chimborazo, Facultad de Ciencias, Escuela de Bioquímica y Farmacia en los Laboratorios de Productos Naturales, Química Instrumental y Bioterio.

#### **2.2 MATERIALES, EQUIPOS Y REACTIVOS**

##### **2.2.1 MATERIAL VEGETAL**

Como materia prima se utilizó flores de badea (*Passiflora quadrangularis*), procedentes de la provincia de Sucumbíos, cantón Shushufindi, recolectadas en el mes de Mayo del 2014.

##### **2.2.2 MATERIALES DE LABORATORIO**

- |                          |                       |
|--------------------------|-----------------------|
| - Adhesivos              | - Equipo de reflujo   |
| - Aspersor (atomizador). | - Espátula            |
| - Balón esmerilado       | - Gradilla            |
| - Balones aforados       | - Kitasato            |
| - Cápsulas de porcelanas | - Mortero con pistilo |
| - Crisoles               | - Papel aluminio      |
| - Embaces ámbar          | - Papel empaque       |
| - Embudo de Buchner      | - Papel filtro        |
| - Embudo Simple          | - Pera de succión     |

- Pinza para cápsula
- Pipetas Volumétricas
- Pizeta
- Placa de sílica gel
- Probetas
- Reverbero
- Termómetro
- Trípode
- Tubos de ensayo
- Varilla de agitación
- Vasos de precipitación
- Vidrio reloj

### 2.2.3 EQUIPOS

- Balanza Analítica (ADAM Y BOECO)
- Bomba de vacío
- Cabina extractora de gases (MEMMERT)
- Cámara fotográfica y de video (SAMSUNG)
- Computadora (SONNY VAIO)
- Desecador
- Espectrofotómetro (PERKING ELMER LAMDA EZ 201 Y HELYOS  $\beta$ )
- Estufa (MEMMERT)
- Mufla (BAUSCH Y LOMS)
- ph-metro (HANNA INSTRUMENT)
- Refractómetro (BAUSCH Y LOMS)
- Refrigeradora (INDURAMA)
- Rotavapor (HEIDOLPHHEI-VAP ADVANTAGE)
- UV

### 2.2.4 REACTIVOS

- Acetato de Sodio
- Ácido acético glacial
- Ácido clorhídrico
- Ácido clorhídrico 1% y 10%
- Ácido nítrico
- Ácido Sulfúrico
- Agua destilada
- Alcohol (96%)
- Alcohol amílico
- Amonio 5%
- Anhídrido acético
- Butanol

- Cloroformo
- Éter
- Flores de badea (*Passiflora quadrangularis*). (20g)
- Magnesio metálico
- Metanol
- Plata nitrato 0.1M
- Reactivo de Dragendorf
- Reactivo de Fehling
- Reactivo de Meyer
- Reactivo de Sudan III
- Reactivo de Wagner
- Rutina
- Sodio carbonato
- Sodio cloruro

## **2.3 MATERIALES Y REACTIVOS PARA EVALUACIÓN DE ACTIVIDAD ANSIOLÍTICA (ENSAYO PRECLÍNICO).**

### **2.3.1 MATERIALES**

- Algodón
- Balones aforados
- Cánula
- Cofia
- Guantes
- Hisopos
- Jeringuillas
- Mandil
- Mascarilla
- Vaselina

### **2.3.2 REACTIVO BIOLÓGICO**

- Ratones *Mus musculus* del Bioterio de la Facultad de Ciencias. ESPOCH.

### 2.3.3 REACTIVOS

- Extracto de flores de badea (*Passiflora quadrangularis*), a 3 dosis diferentes (0.01, 0.0065, 0.003 mg planta/kg peso).
- Glicerina
- Suero fisiológico
- Alcohol antiséptico

### MEDICAMENTOS

#### **Zopiclona**

Nombre Comercial	Zetix
Nombre Genérico	Zopiclona
Fabricante	LABORATORIOS RECALCINE S.A
Nº Registro Sanitario	28.873-05-09
Presentación Comercial	Comprimidos recubiertos
Concentración	7.5 mg.
Fecha elaboración/vencimiento	FE: 03-2014 / FV: 03-2017

#### ***Passiflora incarnata***

Nombre Comercial	PASSINERVAL®
Nombre Genérico	<i>Passiflora incarnata</i>
Fabricante	Laboratorio Dr. A. Bjarner C.A.
Nº Registro Sanitario	002-MNN-1-04-11
Presentación Comercial	Elixir
Concentración	100mg en 5ml.
Fecha elaboración/vencimiento	FE: 07-2014 / FV: 03-2016

## **2.4 TÉCNICAS Y MÉTODOS**

### **2.4.1 CONTROL DE CALIDAD DE LA PLANTA SECA**

#### **2.4.1.1 Determinación de humedad**

Para determinar el contenido de humedad se utilizó el método Gravimétrico, método estufa de aire, siguiendo la técnica descrita en (Normas Ramales. Drogas Crudas y Extractos y Tinturas. NRSP 309, 311 y 312. MINSAP 1992).

Se entiende por humedad el agua libre que contiene el material vegetal. Para una buena conservación ha de ser inferior al 10%, para evitar los procesos enzimáticos y para expresar la valoración de los principios activos referidos a materia seca, además, el contenido de humedad permite conocer la estabilidad de la droga y se relaciona con las condiciones ambientales de su crecimiento.

#### **2.4.1.2 Determinación de cenizas.**

En este análisis se determinó el contenido de cenizas totales, cenizas solubles en agua y cenizas insolubles en ácido clorhídrico mediante el método de la mufla, método de calcinación, se siguió los procedimientos establecidos en (Normas Ramales. Drogas Crudas y Extractos y Tinturas. NRSP 309, 311 y 312. MINSAP 1992).

Las determinaciones de cenizas representan el contenido en sales minerales o en materia inorgánica de la droga vegetal. En condiciones rigurosas, es constante y nos permite descubrir falsificaciones por otras drogas, tierras u otros minerales.

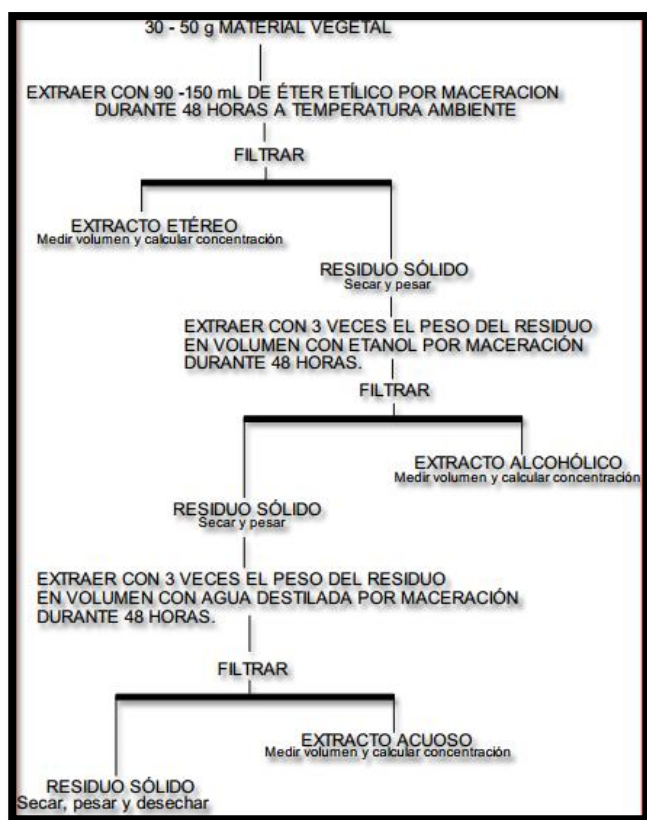
Las cenizas dan una idea del contenido de la materia mineral de la planta. Su determinación es importante porque la materia mineral puede ser responsable de alguna acción

farmacológica, también si su contenido es elevado, puede ser indicador de contaminación por adición de materia mineral o tierra. (SHARAPIN, N. 2000)

## 2.5 TAMIZAJE FITOQUÍMICO

El tamizaje fitoquímico se realizó a través de reacciones químicas de identificación, mediante cambios de color o formación de precipitados, destinadas a determinar la presencia de metabolitos secundarios en el vegetal, siguiendo procedimientos según (Miranda, M. 2000).

Se prepararon tres extractos: etéreo, alcohólico y acuoso según lo que indica el esquema de la Fig. No. 7.



FUENTE: MIRANDA, M. FARMACOGNOSIA Y PRODUCTOS NATURALES

**FIGURA No. 7. ESQUEMA DE EXTRACCIÓN DE LOS METABOLITOS SECUNDARIOS**

**TABLA No. 3      ENSAYOS FITOQUÍMICOS PARA LA IDENTIFICACIÓN DE METABOLITOS SECUNDARIOS**

<b>METABOLITO</b>	<b>ENSAYO</b>
Aceites y Grasas	Sudan
Alcaloides	Dragendorff, Meyer y Wagner
Flavonoides	Shinoda y Antocianidinas
Lactonas y Cumarinas	Baljet
Triterpenos y Esteroides	Liebermand – Buchard
Quinonas	Borntrager
Catequinas	Catequinas
Azúcares Reductores	Fehling
Saponinas	Espuma
Resinas	Resinas
Compuestos Fenólicos y/o Taninos	Tricloruro férrico
Mucílagos	Mucílagos
Principios Amargos	Principios Amargos

Fuente: Rea, V.

Todos los ensayos se realizaron siguiendo las técnicas descritas en (Normas Ramales. Drogas Crudas y Extractos y Tinturas. NRSP 309, 311 y 312. MINSAP 1992).

## **2.6 OBTENCIÓN DEL EXTRACTO**

### **2.6.1 PREPARACIÓN DEL EXTRACTO HIDROALCOHÓLICO DE LAS FLORES DE BADEA (*Passiflora quadrangularis*).**

Con la preparación de un extracto se logra separar las sustancias biológicamente activas de los materiales inertes o inactivos de una planta, a partir del uso de un disolvente y proceso de extracción adecuadas, donde siempre se obtienen por lo menos dos componentes: La solución extraída en un disolvente (el extracto) y el residuo (el bagazo). (GARCÍA, C. y otros. 2009)



La clasificación de los extractos de plantas se basan de acuerdo a la consistencia que poseen, siendo estos los descritos a continuación:

- Extractos fluidos: Son líquidos y generalmente corresponden a la droga seca en una proporción de 1:1, es decir que 1ml de extracto corresponde a 1g de droga seca.
- Extractos blandos: Son semisólidos con una cantidad de agua alrededor del 60%.
- Extractos secos: Son sólidos, polvos o granulados.

Tanto los extractos blandos como los secos pueden estar adicionados de ciertos coadyuvantes y sus especificaciones en lo relacionado de los principios activos y al residuo seco. (SHARAPIN, N. 2000)

#### **2.6.1.1 Secado**

El material vegetal se lavó con abundante agua y se desinfectó con una solución de hipoclorito de sodio al 0,3%. Para su secado, las flores fueron enviadas a Jambi Kiwa (Asociación de productores de Plantas medicinales de Chimborazo) en el mes de Mayo del 2014, en el cantón Riobamba – provincia de Chimborazo, donde primero realizan un proceso de deshidratación por ventilación y extracción de aire y luego para su secado completo, dejan a la planta en un secador de aire caliente a gas a una temperatura de 35 °C durante 8 horas. Para nuestra planta en estudio, este procedimiento duró 3 días.



FUENTE: Rea V. Facultad de Ciencias ESPOCH

**FOTOGRAFÍA No. 3 FLORES SECAS (*Passiflora quadrangularis*)**

### 2.6.1.2 Molienda

La droga seca (*Passiflora quadrangularis*) fue dividida con la ayuda de un mortero en fragmentos parcialmente finos para que sea la adecuada en el proceso de extracción, debido a que si se extrae de una planta entera o dividida en fragmentos gruesos, la extracción sería incompleta por la poca penetración del solvente al tejido vegetal ya que sus membranas actúan como fuertes barreras que dificultan este proceso, y a la vez, las partículas muy finas pueden pasar al extracto generándole a éste un aspecto de turbidez.



FUENTE: Rea V. Facultad de Ciencias ESPOCH  
**FOTOGRAFÍA No. 4 MOLIENDA**

### 2.6.1.3 Proceso de extracción: Maceración

En un envase de vidrio se colocó 20g de planta seca y se agregó etanol al 96% como solvente hasta cubrir totalmente la planta. Se dejó bien tapado por un período de 48 horas en lugar libre de luz y a temperatura ambiente y se agitó periódicamente. Transcurrido el tiempo se pasó por un colador, se exprimió el residuo y se filtró con papel filtro a otro recipiente, para continuar con el proceso de concentración en el rota vapor.

Para disminuir las pérdidas del extracto en el residuo de la extracción, el proceso de maceración se repitió dos veces, esto disminuye la cantidad de extracto retenido en el residuo dando cada vez extractos menos coloreados.



FUENTE: Rea V. Facultad de Ciencias ESPOCH

**FOTOGRAFÍA No. 5 MACERACIÓN**

#### **2.6.1.4 Control de calidad del extracto fluido**

Se procedió al estudio de las siguientes propiedades fisicoquímicas:

- **Determinación de las características organolépticas:** Observando transparencia, olor, color y sabor.
- **Determinación del pH:** Por el método de potenciometría.
- **Determinación de la densidad relativa:** Se utilizó el método del picnómetro.
- **Determinación del índice de refracción:** Utilizando refractómetro de Abbé.
- **Determinación de los sólidos totales:** Según el método de la estufa de aire.

Los parámetros analizados en el extracto fluido fueron realizados siguiendo los procedimientos establecidos en las (Normas Ramales. Drogas Crudas y Extractos y Tinturas. NRSP 309, 311 y 312. MINSAP 1992).

#### **2.6.1.5 Concentración del extracto**

Una vez realizada la etapa de extracción, se procedió a eliminar el solvente del extracto obtenido en la maceración mediante la concentración con un rotavapor hasta reducir el

solvente casi a su totalidad, éste solvente se colocó en un vidrio reloj, se dejó a temperatura ambiente hasta obtener un extracto blando y se calculó su rendimiento.



FUENTE: Rea V. Facultad de Ciencias ESPOCH

**FOTOGRAFÍA No. 6 CONCENTRACIÓN DEL EXTRACTO**

#### **2.6.1.6 Preparación de Tratamientos**

a) Vehículo

- Se preparó una solución de 80ml de suero fisiológico y 20 ml de glicerina.

b) Control Positivo Químico

- Zopiclona: Se pesaron 10 pastillas de zopiclona 7.5mg y se obtuvo una media ( $\bar{X}$ ) de 0.1682g. Este tratamiento se realizó utilizando la dosis efectiva del fármaco (DE).

$$DE = Dosis\ diaria \times Duración\ del\ tratamiento$$

$$DE = 7.5mg \times 7días = 52.5mg.$$

Cálculo para un ratón de peso  $\bar{X} = 35g$ .

$$\begin{array}{lcl} 52.5mg. & \longrightarrow & 7000g. \\ x & \longrightarrow & 35g. \\ x = 0.2625mg. \end{array}$$

Haciendo la relación con la pastilla

$$\begin{array}{lcl} 0.1682g. & \longrightarrow & 7.5mg. \\ x & \longrightarrow & 0.02625g. \\ x = 0.00059 \text{ g/ml.} \end{array}$$

Dio como resultado 0.00059 *g/ml.*, se multiplicó por 25 (factor de dilución) dando un valor de 0.01472g para pasar de polvo de zopiclona, y se aforó a 25ml.

c) Control Positivo Natural

- Tintura de *Passiflora incarnata*.

d) Experimentos Netos

- Extracto al 100%: El extracto blando (rendimiento) obtenido de la concentración, se diluyó con 10ml de una solución de suero fisiológico y glicerina (80:20) y luego se aforó a 25 ml con la misma solución. A partir de este extracto se hicieron diluciones para obtener las otras concentraciones.
- Extracto al 65%: Se tomó 16,25ml del extracto al 100% y se aforó a 25ml.
- Extracto al 30%: Se preparó tomando 11,53ml del extracto al 65% y llevándole a un aforo de 25 ml.

## 2.7 CROMATOGRAFÍA EN CAPA FINA

En una placa de Sílica gel 60 F<sub>254</sub> se colocó 20 µL del concentrado con un capilar a 1cm por encima de la base de la placa, dejando secar completamente luego de cada aplicación.

La placa fue introducida inmediatamente en la cuba cromatográfica hasta que el solvente recorrió las 3/4 partes de la misma, se retiró, se dejó secar a temperatura ambiente y se observó en la lámpara UV a 365nm de longitud de onda. Para finalizar la placa se reveló y una vez seca, se calentó mediante reverbero en la estufa y se midieron los R<sub>f</sub>.

### ALCALOIDES

**Absorbente:** Sílica gel 60 F<sub>254</sub>

**Sistema de solventes:** Cloroformo, Etanol, Dietilamina (80:10:10)

**Revelador:** Wagner

### FLAVONOIDES

**Absorbente:** Sílica gel 60 F<sub>254</sub>

**Sistema de solventes:** Butanol, Ácido acético glacial, Agua (50:10:20)

**Revelador:** Sulfato de Cerio

## 2.8 CUANTIFICACIÓN DE PRINCIPIOS ACTIVOS

### ALCALOIDES

En un balón esmerilado de 250ml, se colocó 5 gramos de droga en polvo con 50 ml de metanol, se llevó a reflujo por 30 minutos y se filtró. El filtrado se trasvasó a un balón volumétrico de 100ml y se aforó con metanol. Finalmente se determinó en el espectrofotómetro la absorbancia a una longitud de onda de 269nm utilizando como blanco metanol.

El cálculo se realizó empleando la siguiente expresión:

$$X = \frac{Am_1}{Am_{st}} \times \text{Factor de dilución} \times 100$$

#### **FÓRMULA**

#### **Dónde:**

**X**= Contenido de alcaloides expresados como Harmano Totales (%)

**Am<sub>1</sub>**= Absorbancia de la solución de la muestra (nm)

**Am<sub>st</sub>**= Absorbancia de la solución de referencia (nm)

#### **FLAVONOIDES**

Una alícuota de 500µL de extracto se colocó en un tubo con 400µL de agua destilada, luego se añadió 38 µL de NaNO<sub>2</sub> al 5% p/v, se homogenizó, tapó y se dejó en reposo a temperatura ambiente durante 5 minutos, después se agregó 38 µL de AlCl<sub>3</sub> al 10% p/v, se agitó y se dejó en reposo a temperatura ambiente por 6 minutos, por último se añadió 250 µL de NaOH 1M y se completó a un volumen final de 1250 µL con agua destilada. En un espectrofotómetro se midió la absorbancia de la reacción inmediatamente a una longitud de onda de 510nm.

La concentración de flavonoides fue establecida empleando una curva de calibración con concentraciones mínimas conocidas de rutina. Los resultados se expresaron como mg de rutina por gramo de planta.

### **2.9 ACTIVIDAD ANSIOLÍTICA DEL EXTRACTO DE FLORES DE BADEA.**

#### **2.9.1 PROTOCOLO FARMACOLÓGICO**

### 2.9.1.1 Aclimatación

La evaluación de actividad ansiolítica se realizó siguiendo procedimientos *in vivo* aplicados a 18 ratones (*Mus musculus*) de 31 a 36 gramos de peso corporal y 60 días de edad aproximadamente. Facilitados por el Bioterio de la Facultad de Ciencias de la Escuela Superior Politécnica de Chimborazo. Dos semanas antes del experimento todos los animales fueron sometidos a iguales condiciones ambientales y de alimentación de acuerdo al protocolo de investigación en el Bioterio de la ESPOCH. Las condiciones macroambientales de aclimatación fue una temperatura de  $22\pm 2^{\circ}\text{C}$  y una humedad relativa de  $50\%\pm 5$  con ciclos de día y de noche naturales y su alimentación fue de 1.5 g/día/ratón; agua *ad-libitum*, además; se realizó el cambio de cama pasando un día y el peso se controló todos los días.

### 2.9.1.2 Técnica

Los animales fueron divididos en 6 grupos, cada uno con 3 ratones escogidos aleatoriamente. A cada grupo se estableció al azar los distintos tratamientos de la siguiente manera:

- Blanco: Suero fisiológico, glicerina (80:20)
- Control Positivo Químico: Zopiclona 7.5mg.
- Control Positivo Natural: *Passiflora incarnata*.
- Experimentales netos: Planta en estudio. Flor de badea (*Passiflora quadrangularis*).

Se evaluaron dosis de 30, 65 y 100%

Las pruebas para estudiar el comportamiento del SNC se los efectuó 30 minutos después de la administración. Tiempo en el que el medicamento alcanza su máxima concentración plasmática.



### 2.9.1.3 Bioensayo

Los 6 grupos seleccionados (n=3), sirvieron como Blanco (G1), Control Positivo Químico (G2), Control Positivo Natural (G3), Experimento Neto (G4) (G5) (G6).

- El primer grupo fue utilizado como Blanco (G1) al cual se le administró 0.2 ml del vehículo que consistía de suero fisiológico y glicerina (80:20) por vía oral (V.O).
- El segundo grupo sirvió como Control Positivo Químico (G2) y se le administró 0.2 ml de zopiclona con una concentración de 0.75 mg/kg/ml por vía oral (V.O).
- El tercer grupo se utilizó como Control Positivo Natural (G3), se le administró por vía oral (V.O) 0.2 ml de extracto de *Passiflora incarnata*.
- El cuarto (G4), quinto (G5) y sexto (G6) grupo se les administraron 0.2 ml del extracto de la planta en estudio (*Passiflora quadrangularis*) en tres concentraciones diferentes (30, 65 y 100%) respectivamente por vía oral (V.O). A estos grupos se los denominó como Experimento Neto.

Los tratamientos y los grupos se pueden apreciar en la siguiente tabla.

**TABLA No. 4 DISEÑO EXPERIMENTAL PARA EVALUAR LA ACTIVIDAD ANSIOLÍTICA**

Código	Grupo	Tratamiento	Concentración	Volumen administrar	Vía Adm.	Número Animales
G1	Blanco	Suero fisiológico y glicerina	80:20	0.2 ml.	V.O	3
G2	Control Químico (+)	Zopiclona	0,75 mg/kg	0.2 ml.	V.O	3
G3	Control Natural (+)	<i>Passiflora incarnata</i>	100mg en 5ml	0.2 ml.	V.O	3
G4	Experimento Neto	Extracto flor de badea	100%	0.2 ml.	V.O	3
G5	Experimento Neto	Extracto flor de badea	65%	0.2 ml.	V.O	3
G6	Experimento Neto	Extracto flor de badea	30%	0.2 ml.	V.O	3

FUENTE: REA. V

#### **2.9.1.4 Evaluación**

Es importante mencionar que a todos los animales se les suministró una alimentación para que logren un peso estándar, es decir que al momento de realizar la investigación todos los ratones consumieron la misma cantidad de alimento descrita en la aclimatación.

El experimento se efectuó durante un periodo de 7 días. Los animales estuvieron en ayuno de 12 horas, la administración fue a la misma hora, una vez al día por los 7 días que duró el tratamiento.

El estudio neurofarmacológico se lo efectuó por 3 ocasiones cada 2 días en ratones *Mus musculus* en el Bioterio de la Escuela de Bioquímica y Farmacia de la Facultad de Ciencias. ESPOCH.

A cada grupo de animales se los evaluó de acuerdo a la Prueba del Campo Abierto, Prueba de la Caja Luz – Oscuridad, Prueba del Laberinto Elevado Cero, Prueba Enterramiento de Canicas y Prueba del Alambre.

Se analizaron los parámetros de comportamiento del reactivo biológico, como actividad motriz, levantamientos, arañazos, lamidas, deambulación, micción, defecación, entre otros dependiendo de la prueba.

#### **2.9.1.5 Análisis estadístico**

Para evaluar la actividad ansiolítica como detalla el diseño experimental (Tabla No. 4), se procedió al análisis estadístico de los datos de comportamiento de los ratones.

Para realizar un análisis preciso de la diferencia estadísticamente significativa de los resultados obtenidos se realizó un test estadístico de Anova y un post estadístico de Tukey HSD 95% de comparaciones múltiples.

El test de Anova, un análisis de varianzas con datos agrupados plantea dos hipótesis, la nula que dice que los grupos de estudio no presentan diferencias estadísticamente significativas, lo cual se interpreta como que todas las sustancias de estudio tienen el mismo efecto y no difieren entre sí, y por otra parte está la hipótesis alternativa que menciona que al menos uno de los grupos de estudio presenta resultados distintos a los demás de interés. Para determinar si existe o no diferencia estadísticamente significativa analizamos el p-valor si este es menor a 0.05 se rechaza la hipótesis nula y se acepta la alternativa lo cual idealizaría esta investigación. Posteriormente, se empleó el post estadístico de Tukey HSD al 95% de comparaciones múltiples, que señala grupos iguales o diferentes con respecto a los tratamientos para permitir conocer si existe o no actividad farmacológica en la planta de estudio.

## **2.10 DESCRIPCIÓN METODOLÓGICA DE LA EVALUACIÓN DE LA ACTIVIDAD ANSIOLÍTICA.**

Después de que todos los animales estuvieron con un peso estándar (31 - 36g), se les realizaron los ensayos neurofarmacológicos que sirvieron para evaluar el comportamiento de su Sistema Nervioso Central (SNC), los mismos que consistieron en 5 pruebas: Prueba del Campo Abierto, Prueba de la Caja Luz – Oscuridad, Prueba del Laberinto Elevado Cero, Prueba del Enterramiento de Canicas y Prueba del Alambre.

Para este estudio, a cada grupo de animales de experimentación se les administró por vía oral dos patrones de actividad conocida, uno químico (Zopiclona) y uno natural (*Passiflora incarnata*.) con los que se pudieron comparar el efecto ansiolítico de las tres diferentes concentraciones del extracto hidroalcohólico de las flores de badea (*Passiflora quadrangularis*) de 100, 65 y 30% obteniendo una relación de 0.01, 0.0065 y 0.003 mg de planta/kg de peso, partiendo de un extracto blando en el cual se evaporó todo el etanol para evitar gastritis en los ratones y falsos positivos con respecto a la actividad en estudio.

## **2.11 ENSAYOS NEUROFARMACOLÓGICOS**

### **2.11.1 PRUEBA DEL ALAMBRE**

Este ensayo sirve para evaluar si los tratamientos administrados promueven incoordinación motora en los ratones, por sedación y/o relajamiento muscular. (BONILLA, J. 2013)



FUENTE: Rea V. Facultad de Ciencias ESPOCH.

**FOTOGRAFÍA No. 7 PRUEBA DEL ALAMBRE**

### **Descripción del Método**

Cada uno de los ratones fue suspendido por sus patas delanteras en un alambre de 1 cm de diámetro y 15 cm de longitud posicionado a 20 cm de altura. Todos fueron sometidos a un previo entrenamiento para que fueran capaces de agarrarse del alambre.

30 minutos después de la administración oral de los distintos tratamientos, se ejecuta esta prueba tomando el tiempo que tarda el ratón en realizar el agarre con sus 4 patas. (KAMENETZKY, G. 2011)

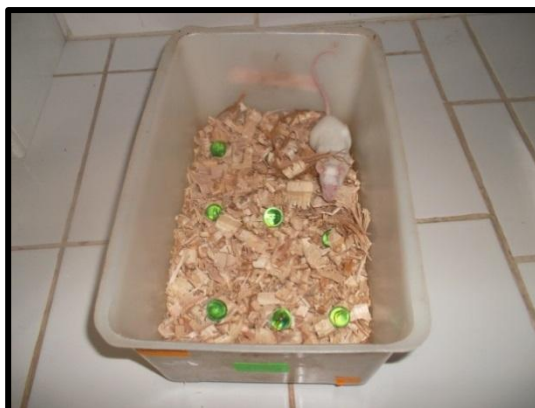
### **2.11.2 PRUEBA DEL ENTERRAMIENTO DE CANICAS**

Esta prueba es utilizada para evaluar los niveles de ansiedad del animal, de tal manera que una reducción o aumento en el número de esferas enterradas se interpreta como una disminución o aumento en los niveles de ansiedad. (KINTANA, D. y otros. 2007)

Los roedores usan el material de su caja para enterrar los objetos que consideran nocivos o amenazantes; sobre esta base, las canicas de vidrio se encuentran entre los estímulos que les ocasiona miedo y aversión.

Esto podría ser resultado de la novedad que estos objetos representan en su medio ambiente y el entierro de las canicas se vería como la conducta apropiada porque quita la fuente del estímulo que causa aversión.

La inhibición de esta conducta ha sido propuesta como prueba para identificar compuestos ansiolíticos. Alternativamente, se ha propuesto que el enterramiento es una conducta compulsiva, porque los inhibidores de la recaptura de serotonina que se utilizan para tratar la alteración obsesivo-compulsiva en humanos inhiben esta conducta. (BONILLA, J. 2013)



FUENTE: Rea V. Facultad de Ciencias ESPOCH.

**FOTOGRAFÍA No. 8 PRUEBA DEL ENTERRAMIENTO DE CANICAS**

### **Descripción del Método**

Los animales fueron colocados en cajas de plástico (20×30 cm), con una capa de viruta de madera de 5 cm de profundidad, separados de forma individual, las mismas que eran las jaulas donde vivían. Esto se consideró para evitar el tiempo que debe transcurrir (aproximadamente 30 minutos) para que los animales se acostumbren en un nuevo ambiente. Se ubicaron simétricamente nueve esferas de cristal en presencia del animal, el

ambiente se iluminó con una luz alta de intensidad de modo que las esferas tengan el mayor brillo posible.

Teniendo el cuidado de mantener el silencio, se dejó por un período de 20 minutos que los animales escondan las esferas con la viruta. Transcurrido el tiempo se contó las esferas escondidas por cada animal. (POLANCO, L. 2011)

### 2.11.3 PRUEBA LABERINTO ELEVADO CERO

La prueba del laberinto elevado cero, diseñado originalmente por Shepard et al, en 1994, permite medir la ansiedad y la exploración en ratones mediante el aprovechamiento de la tendencia innata de los ratones para evitar áreas abiertas y elevadas. Este tiene varias ventajas frente a otros laberintos ya que su diseño circular permite la exploración ininterrumpida al no tener un cuadro central que produce medidas ambiguas. (MONTI, J. 2010) (OSPINA, A. 2010)

El laberinto elevado cero emplea estímulos “naturales” que pueden inducir ansiedad en humanos. Se asume que los cuadrantes abiertos que tiene el laberinto provocan miedo a los animales por ser un ambiente desconocido, abierto e intensamente brillante, además; de generar miedo a mantenerse en equilibrio en una superficie relativamente angosta ubicada a una determinada altura.

Se han dado hipótesis diciendo que estos miedos tendrían similitud con la agorafobia y el vértigo, respectivamente. (POLANCO, L. 2011)

El tiempo empleado en los brazos abiertos no protegidos se utilizan como índices experimentales de ansiedad, mientras que las entradas en los brazos cerrados son vistas como los índices de locomoción general. (BROWN, R. y otros. 2013)



FUENTE: Rea V. Facultad de Ciencias ESPOCH.

**FOTOGRAFÍA No. 9 PRUEBA DEL LABERINTO ELAVADO CERO**

### **Descripción del Método**

El laberinto elevado cero que se utilizó para esta prueba estaba hecho de policarbonato negro y consistía en un círculo con 65 cm de diámetro en su interior. La ruta circular de 5 cm de ancho se dividió en cuatro cuadrantes, dos de los cuales tenían paredes (27 cm de altura) en el borde (cuadrantes cerrados), mientras que los otros dos no tenían paredes (cuadrantes abiertos). Un pequeño labio (4 cm) se colocó en el borde de los cuadrantes abiertos para evitar que los ratones se caigan del laberinto. Se pusieron cuatro patas de madera de 10.5 cm de altura para que se eleve del suelo. (BROWN, R. y otros. 2013)

El laberinto fue iluminado con una bombilla roja de 60 vatios y se utilizó una cámara de video para su posterior análisis. Media hora después de la administración oral, la prueba iniciaba colocándole al ratón en uno de los cuadrantes cerrados permitiéndole explorar por un período de 5 minutos.

El parámetro analizado fue el tiempo de duración en cuadrantes abiertos.

#### 2.11.4 PRUEBA DE LA CAJA LUZ – OSCURIDAD

La prueba de la caja luz – oscuridad, descrito por Crawley y Goodwin tiene como propósito medir la ansiedad y los niveles de actividad de los ratones mediante el aprovechamiento de la tendencia innata que poseen para evitar las zonas iluminadas, debido a que son animales nocturnos. Además la motivación por explorar un ambiente desconocido al cual son expuestos, incide para que el animal cruce de un compartimiento a otro. (PEREIRA, C. y VILEGAS, J. 2000) (KINTANA, D. y otros. 2007)

Menor tiempo de permanencia en la zona clara indica un mayor nivel de ansiedad en esta prueba. La actividad locomotora también se evaluó analizando el número de líneas cruzadas. (KAMENETZKY, G. 2011)



FUENTE: Rea V. Facultad de Ciencias ESPOCH.

**FOTOGRAFÍA No. 10      PRUEBA DE LA CAJA LUZ  
– OSCURIDAD**

#### **Descripción del Método**

Esta prueba se la realizó en una caja (45×27×27cm), hecha de madera contrachapada que consistía de dos compartimientos de diferentes tamaños y colores. El compartimiento pequeño (18×27cm) estaba pintado de negro y el más grande (27×27cm) fue pintado de blanco. Un túnel (7.5×7.5cm) se ubicó en la pared que dividía los dos compartimientos. Se dibujaron líneas en el suelo de la caja dividiendo la parte clara en nueve cuadrados de



(9×9cm) y la oscura en seis cuadrados de la misma medida. Policarbonato transparente fue colocado sobre el suelo y como tapa para cubrir ambos compartimientos. (BROWN, R. y otros. 2013)

Al compartimiento de color blanco se le proporcionó brillante iluminación con una lámpara de mesa ubicado a 20 cm por encima del centro, y una cámara de video se utilizó para registrar los ensayos y poder realizar su análisis posterior.

El ensayo se realizó 30 minutos después de la administración oral de cada uno de los tratamientos. Para iniciar esta prueba al sujeto se le ubicaba en el compartimiento blanco e iluminado con dirección a la parte oscura. Se evaluó por un periodo de 5 minutos.

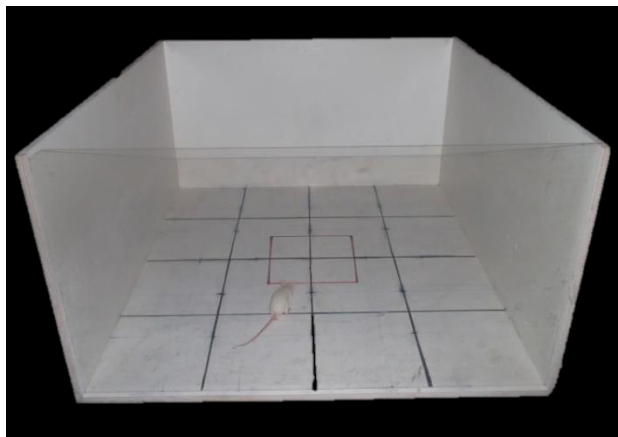
Los factores que fueron analizados son los siguientes:

- **Número de Transiciones (NT):** Número de transiciones a través del túnel. Se consideró una transición cuando el sujeto pasó con las 4 patas a la casilla de destino.
- **Líneas cruzadas en el espacio claro (LEC):** Número de sectores (cuadros) en el que el sujeto entró con las 4 patas en el espacio claro.
- **Líneas cruzadas en el espacio oscuro (LEO):** Número de sectores (cuadros) en el que el sujeto entró con las 4 patas en el espacio oscuro.
- **Tiempo en el espacio claro (TEC):** Duración total en que el sujeto se encuentra en el compartimiento claro.

#### 2.11.5 PRUEBA DEL CAMPO ABIERTO

Prueba inicialmente descrita por Hall en 1934, evalúa la emocionalidad (ansiedad), exploración y los niveles de actividad en ratones al analizar las reacciones de ansiedad o miedo que estos experimentan al ser expuestos a un espacio nuevo y desconocido y con un cierto grado de iluminación. (PATEL, S. y otros. 2011)

El aumento de deambulación, se relaciona con la actividad exploratoria y locomotora, un aumento de estadía en la zona del centro indica actividad ansiolítica o sedativa, y un incremento en los compartimientos de aseo, incorporaciones y defecación indica un índice de emocionalidad. (ROJAS, J. y DÍAZ, D. 2009)



FUENTE: Rea V. Facultad de Ciencias ESPOCH.

**FOTOGRAFÍA No. 11 PRUEBA DEL CAMPO ABIERTO**

### **Descripción del Método**

Para esta prueba se utilizó un aparato de campo abierto constituido de un cuadrado de 72×72cm, con 36 cm de altura, hecha de madera contrachapada pintada de blanco, el piso se dividió en 16 cuadrados iguales de 18×18 cm de color negro con un cuadrado central de contorno rojo . Una de las paredes estaba hecha de policarbonato transparente para que los ratones puedan ser visibles. (BROWN, R. y otros. 2013)

La caja fue iluminada con una bombilla roja de 60 vatios y se utilizó una cámara de video para su posterior análisis.

Media hora después de la administración oral, los animales fueron colocados en el cuadrado central para empezar la prueba, permitiéndoles explorar el aparato durante 5 minutos. Se registraron las siguientes conductas:

- **Deambulación (DEA):** Número de sectores (cuadros) en el que el sujeto entró con las 4 patas.
- **Cuadro Central (CC):** Número de veces que el ratón entró al cuadro central con las 4 patas.
- **Incorporaciones (INC):** Número de veces que el ratón levantó las patas delanteras estirando el cuerpo, quedándose apoyado sobre las dos traseras.
- **Aseo (AS):** Número de veces que el ratón se frotó con las manos la cara con movimientos rotatorios.
- **Micción (MIC):** Número de charcos o rayas de orina.
- **Defecación (DEF):** Número de bolas fecales.

## CAPÍTULO III

### 3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Posterior a los análisis que se sometió a la droga seca, descritos en el capítulo anterior; se obtuvieron los resultados que se muestran a continuación. Cada resultado se comparó con los rangos establecidos según bibliografía.

#### 3.1 CONTROL DE CALIDAD DE LA MATERIA PRIMA

Los resultados del control de calidad realizados a las flores secas de badea (*Passiflora quadrangularis*) se presentan en el Cuadro No. 1.

**CUADRO No. 1 CONTROL DE CALIDAD DE LA DROGA SECA DE LA FLOR DE BADEA (*Passiflora quadrangularis*). LABORATORIO DE PRODUCTOS NATURALES. FACULTAD DE CIENCIAS. ESPOCH. RIOBAMBA MAYO 2014.**

Parámetro	Flor de badea ( <i>Passiflora quadrangularis</i> )	Especificación (NEPT)
Contenido de Humedad (%)	8.01%	8 -14%
Contenido de Cenizas Totales (%)	9.30%	Hasta 12%
Contenido de Cenizas solubles en Agua (%)	6.87%	Hasta 7%
Contenido de Cenizas insolubles en Ácido Clorhídrico (%)	4.12%	Hasta 5%

NORMA ECUATORIANA DE FITOTERÁPICOS (NPT).

En todos los parámetros analizados la flor de badea (*Passiflora quadrangularis*) cumple con las especificaciones establecidas por la Norma Ecuatoriana de Fitoterápicos (NEPT).

### 3.2 CONTROL DE CALIDAD DEL EXTRACTO HIDROALCOHÓLICO (EXTRACTO FLUIDO).

#### 3.2.1 DETERMINACIÓN DE PARÁMETROS ORGANOLÉPTICOS

**CUADRO No. 2 DETERMINACIÓN ORGANOLÉPTICA DEL EXTRACTO HIDROALCOHÓLICO (EXTRACTO FLUIDO) DE LAS FLORES DE BADEA (*Passiflora quadrangularis*). LABORATORIO DE PRODUCTOS NATURALES. FACULTAD DE CIENCIAS. ESPOCH. JUNIO 2014.**

Parámetro	Resultado
Aspecto	Transparente
Color	Café
Olor	Floral, alcohólico
Sabor	Amargo

#### 3.2.2 DETERMINACIÓN DE LOS PARÁMETROS FÍSICO – QUÍMICOS

**CUADRO No. 3 DETERMINACIÓN DE LOS PARÁMETROS FÍSICO – QUÍMICOS DEL EXTRACTO HIDROALCOHÓLICO (EXTRACTO FLUIDO) DE LAS FLORES DE BADEA (*Passiflora quadrangularis*). LABORATORIO DE PRODUCTOS NATURALES. FACULTAD DE CIENCIAS. ESPOCH. JUNIO 2014.**

Parámetro	Resultado
pH	6.27
Índice de Refracción	1.363
Densidad Relativa (g/ml)	0.99
Sólidos Totales (%)	4.70

### 3.3 TAMIZAJE FITOQUÍMICO

En el siguiente cuadro se exponen los resultados del tamizaje fitoquímico que se realizó a los extractos etéreo, alcohólico y acuoso de las flores de badea (*Passiflora quadrangularis*).

**CUADRO No. 4 TAMIZAJE FITOQUÍMICO DE LOS EXTRACTOS ETÉREO, ALCOHÓLICO Y ACUOSO DE LAS FLORES DE BADEA (*Passiflora quadrangularis*). LABORATORIO DE PRODUCTOS NATURALES. FACULTAD DE CIENCIAS. ESPOCH. JUNIO 2014.**

Ensayo	Metabolito	Ex. Etéreo	Ex. Alcohólico	Ex. Acuoso
Sudan	Aceites y grasas	+++		
Dragendorff	Alcaloides	+++	+++	+++
Wagner	Alcaloides	+++	+++	+++
Mayer	Alcaloides	++	+++	+++
Baljet	Lactonas y cumarinas	-	++	
Liberman – Buchard	Triterpenos y/o esteroides	+++	+++	
Catequinas	Catequinas		-	
Resinas	Resinas		-	
Fehling	Azúcares reductores		+	-
Espuma	Saponinas		-	++
FeCl <sub>3</sub>	Taninos		++	+
Borntrager	Quinonas		-	
Shinoda	Flavonoides		+++	++
Antocianidinas	Flavonoides		+++	
Mucílagos	Mucílagos			-
Principios Amargos	Principios Amargos			+++

Ausencia: (-). Evidencia Baja: (+). Evidencia Media: (++) Evidencia Alta: (+++).

Según el Cuadro No. 4, en el estudio fitoquímico realizado a los extractos alcohólico, etéreo y acuoso; se determinó una mayor evidencia de metabolitos secundarios a los Alcaloides. Flavonoides, Triterpenos, Aceites y grasas y Principios amargos

aproximadamente y en poca cantidad Taninos y Azúcares reductores. En el extracto acuoso hubo presencia de Saponinas.

Los resultados de este análisis se confirmó bibliográficamente con varios estudios donde Lim, T (2012) describe a la *P.quadrangularis* en forma general con gran cantidad de Triterpenos y Flavonoides. Chittaranjan. K (2011), Spinella. M (2001), Cooper. E y Yamaguchi. N (2002), Lader. M y colaboradores (2006), Watson. R y Preedy. V (2008) indican que la familia *Passiflora* se caracteriza por tener Flavonoides y Alcaloides indólicos en su composición química y todos llegan a la conclusión que el flavonoide crisina y flavonoides glicosilados como vitexina, isovitexina e isoorientina les dan la actividad ansiolítica a esta familia y en la mayoría de especies también el alcaloide harmano. Por otra parte, existe literatura de los triterpenos con reportes de acción estimulante y depresora del Sistema Nervioso Central (Cuellar et. al, 2001) que pueden influir en esta actividad, metabolitos que igual se presentaron con mayor evidencia en la planta en estudio *Passiflora quadrangularis*.

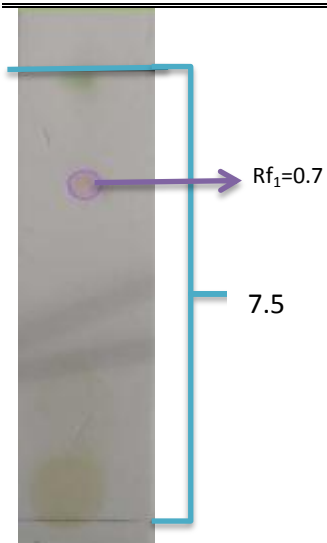
Se encontró un trabajo sobre estudios fitoquímicos y farmacológicos, en catorce muestras de especies de *Passiflora* que determinan la presencia de flavonoides y saponinas. (BIRK, C. 2005)

Y en un estudio fitoquímico realizado a *P.incarnata*, se demostró la presencia de flavonoides, azúcares, oligosacáridos, aminas y aminoácidos en esta especie. (GARCÍA, C. y otros. 2009)

### 3.4 CROMATOGRAFÍA EN CAPA FINA

#### ALCALOIDES

**CUADRO No. 5** ANÁLISIS CROMATOGRÁFICO PARA ALCALOIDES MEDIANTE LA MEDICIÓN DE  $R_f$  DEL EXTRACTO DE LAS FLORES DE BADEA (*Passiflora quadrangularis*). LABORATORIO DE PRODUCTOS NATURALES. FACULTAD DE CIENCIAS. ESPOCH. JUNIO 2014.

PLACA CROMATOGRÁFICA	BANDA	$R_f$	COMPUESTO IDENTIFICADO
 <p>FUENTE: Rea V. Facultad de Ciencias ESPOCH.</p> <p><b>FOTOGRAFÍA No. 12</b></p> <p><b>CROMATOGRAFÍA ALCALOIDES</b></p>	1	$R_f = \frac{5.3}{7.5} = 0.7$	Harmano

**Absorbente:** Sílica gel 60 F<sub>254</sub>

**Sistema de solventes:** Cloroformo, Etanol, Dietilamina (80:10:10)

**Revelador:** Wagner

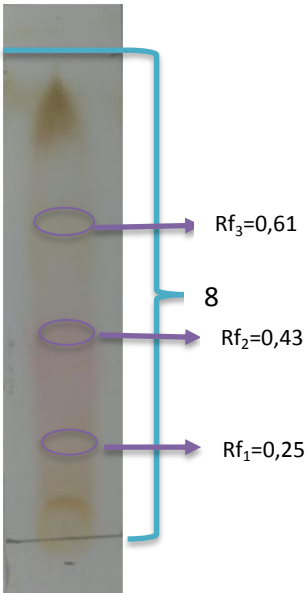
La Fotografía No. 12, indica la presencia de un compuesto con un  $R_f = 0.7$  que podría tratarse del alcaloide harmano según Wagner que establece un rango de  $R_f \sim 0.75$  para este alcaloide. (WAGNER, H. 1996)



La presencia de harmano se ha identificado principalmente en la *P. caerulea* y en otras especies como *P. edulis*, *P. incarnata*, *P. tripartita*, *P. ligularis*, estos estudios consideran a este alcaloide como uno de los compuestos que influyen en la característica ansiolítica de la familia *Passifloraceae*. (KUMAR, S. 2002) (PATEL, S. y otros. 2010) (PEREIRA, C. y VILEGAS, J. 2000) (WESZ, M. y otros. 2010)

## FLAVONIODES

**CUADRO No. 6 ANÁLISIS CROMATOGRÁFICO PARA FLOVONOIDES MEDIANTE LA MEDICIÓN DE  $R_f$  DEL EXTRACTO DE LAS FLORES DE BADEA (*Passiflora quadrangularis*). LABORATORIO DE PRODUCTOS NATURALES. FACULTAD DE CIENCIAS. ESPOCH. JUNIO 2014.**

PLACA CROMATOGRÁFICA	BANDA	$R_f$	COMPUESTOS IDENTIFICADOS
 <p>FUENTE: Rea V. Facultad de Ciencias ESPOCH.</p>	1	0,25	Isovitexina 2''-O-glucosido
	2	0,43	Isoorientina
	3	0,61	Flavona-C-glicosilada

**FOTOGRAFÍA No. 13**  
**CROMATOGRAFÍA FLAVONOIDES**

**Absorbente:** Sílica gel 60 F<sub>254</sub>

**Sistema de solventes:** Butanol, Ácido acético glacial, Agua (50:10:20)

**Revelador:** Sulfato de Cerio

Los resultados expresados en el Cuadro No. 6 muestran las tres manchas identificadas en el TLC, estas indican ser los posibles compuestos según su Rf. Según Wagner, H. (1996) la isovitexina 2''-O-glucosido tiene un Rf 0.2, la isoorientina un Rf 0.45 y la flavona-C-glicosilada un Rf 0.65. Por lo tanto, las manchas que se identifican en la Fotografía No.13, podrían ser estos compuestos al presentar Rfs de 0.25, 0.43 y 0.61, respectivamente.

Estudios realizados a varias especies de *Passiflora*, indican a los tres compuestos identificados en este análisis como los principales flavonoides presentes en esta familia y todos señalan al monoflavonoide crisina como el metabolito que muestra actividad ansiolítica por ser el que se liga al receptor GABA teniendo efectos similares al diazepam (una benzodiacepina). (LIM, T. 2012) (SPINELLA, M. 2001) (WESZ, M. y otros. 2010)

### 3.5 CUANTIFICACIÓN DE PRINCIPIOS ACTIVOS

#### 3.5.1 CUANTIFICACIÓN DE ALCALOIDES TOTALES EXPRESADOS COMO PORCENTAJE DE HARMANO

**CUADRO No. 7 CUANTIFICACIÓN DE ALCALOIDES POR ESPECTROFOTOMETRÍA DEL EXTRACTO HIDROALCOHÓLICO DE LAS FLORES DE BADEA (*Passiflora quadrangularis*) UTILIZANDO DATOS BIBLIOGRÁFICOS COMO REFERENCIA. LABORATORIO DE PRODUCTOS NATURALES. FACULTAD DE CIENCIAS. ESPOCH. JUNIO 2014.**

MUESTRAS	ABSORBANCIAS
Harmano (Dato bibliográfico)	Absortividad $A_{1cm}^{1\%} = 1987$
Extracto de las flores de badea ( <i>Passiflora quadrangularis</i> )	0.741

FUENTE: OSSELTON, M. (2011). CLARKE'S ANALYSIS OF DRUGS AND POISONS.

$$X = \frac{Am_1}{Am_{st}} \times \text{Factor de dilución} \times 100$$

$$X = \frac{0.741}{1987} + \frac{1\text{gH}}{100\text{ml}} + \frac{100\text{ml}}{5\text{gde planta}} + \frac{25\text{ml}}{2\text{ml}} \times 100$$

$$X = 0.9323 \text{ mg Harmano/g muestra}$$

El cálculo teórico indica que la concentración de alcaloides expresados como Harmano Totales es de 0.9323 mg de Harmano por cada gramo de muestra.

### 3.5.2 CUANTIFICACIÓN DE FLAVONOIDES TOTALES EXPRESADOS COMO PORCENTAJE DE RUTINA

**CUADRO No. 8 CUANTIFICACIÓN DE FLAVONOIDES POR ESPECTROFOTOMETRÍA DEL EXTRACTO HIDROALCOHÓLICO DE LAS FLORES DE BADEA (*Passiflora quadrangularis*) UTILIZANDO RUTINA COMO ESTÁNDAR. LABORATORIO DE PRODUCTOS NATURALES. FACULTAD DE CIENCIAS. ESPOCH. JULIO 2014.**

CONCENTRACIÓN (ppm)	ABSORBANCIA DEL ESTÁNDAR A 510nm	ABSORBANCIA DE LA MUESTRA ( <i>Passiflora quadrangularis</i> ) A 510nm
5	0,189	0.310
10	0,239	
15	0,289	
20	0,339	
25	0,392	

El Cuadro No. 8, indica las diferentes concentraciones a la que fue sometida la rutina usada como estándar y sus respectivas absorbancias establecidas por espectrofotometría a una lectura de 510nm, datos que sirvieron para realizar una curva de calibración expresada en el Anexo No. 5, para poder determinar el contenido flavonólico del extracto hidroalcohólico.

La concentración de Flavonoides presentes en las flores de badea (*Passiflora quadrangularis*) expresados como rutina es de 0,35 miligramos de por cada gramo de muestra.

### 3.6 ANÁLISIS ESTADÍSTICO DE LOS ENSAYOS NEURAFARMACOLÓGICOS.

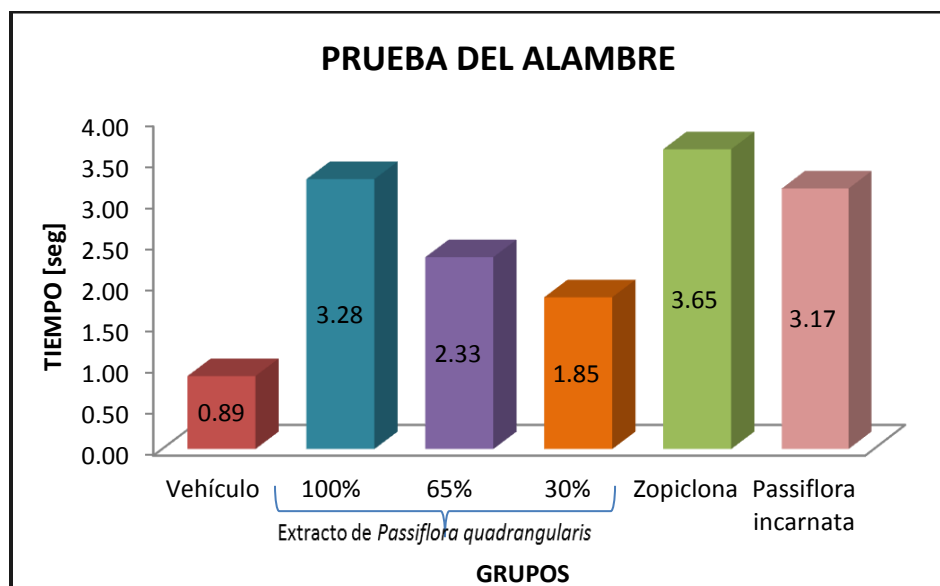
A continuación se presentan los resultados de las diferentes pruebas realizadas a ratones (*Mus musculus*) que sirvieron para evaluar el comportamiento de su Sistema Nervioso Central.

#### 3.6.1 PRUEBA DEL ALAMBRE

**CUADRO No. 9 RESULTADOS DEL ANÁLISIS ESTADÍSTICO DE LA PRUEBA DEL ALAMBRE PARA LA EVALUACIÓN DEL EFECTO ANSIOLÍTICO DEL EXTRACTO HIDROALCÓHOLICO DE FLOR DE BADEA (*Passiflora quadrangularis*) EN RATONES (*Mus musculus*). BIOTERIO DE LA ESCUELA DE BIOQUÍMICA Y FARMACIA. FACULTAD DE CIENCIAS. ESPOCH. JULIO 2014.**

Grupo	Tratamiento	$\bar{X}$ Tiempo (seg)	Tukey HDS 95% (Grupos Homogéneos)
G1 (Blanco)	Vehículo (Suero Fisiológico: Glicerina 80:20)	0.89 ± 0.17	X
G2 (Control Químico)	Zopiclona	3.65 ± 1.31	X
G3 (Control Natural)	<i>Passiflora incarnata</i>	3.17 ± 0.60	X
G4	Extracto <i>Passiflora quadrangularis</i> 100%	3.28 ± 0.30	X
G5	Extracto <i>Passiflora quadrangularis</i> 65%	2.33 ± 0.69	XX
G6	Extracto <i>Passiflora quadrangularis</i> 30%	1.85 ± 0.51	XX

**GRÁFICO No. 1 DETERMINACIÓN DE LA PRUEBA DEL ALAMBRE APLICADA A CADA GRUPO DE RATONES (*Mus musculus*) LUEGO DE LA ADMINISTRACIÓN DE LOS DIFERENTES TRATAMIENTOS. BIOTERIO DE LA ESCUELA DE BIOQUÍMICA Y FARMACIA. FACULTAD DE CIENCIAS. ESPOCH. JULIO 2014.**



**CUADRO No. 10 TEST ANOVA PARA PRUEBA DEL ALAMBRE. BIOTERIO DE LA ESCUELA DE BIOQUÍMICA Y FARMACIA. FACULTAD DE CIENCIAS. ESPOCH. JULIO 2014.**

Anova Un Factor					
Variable Respuesta: PRUEBA DEL ALAMBRE (Tiempo)					
Variable Explicativa: GRUPOS DE ESTUDIO					
Número de Casos: 18					
	Suma de Cuadrados	G.L.	Cuadrado Medio	F-valor	p-valor
Entre Grupos	16.2535	5	3.2507	6.6299	0.0035
Dentro Grupos	5.8837	12	0.4903		
Total (corr.)	22.1372	17			

## ANÁLISIS DE LOS RESULTADOS

El propósito de esta prueba es determinar si en los grupos de estudio se ven afectadas sus capacidades motrices y efecto relajante muscular del extracto hidroalcohólico de flor de

badea (*Passiflora quadrangularis*), con lo cual se determinó que tarda un mayor tiempo en reaccionar los animales que forman el grupo control positivo (G2) que de manera esquemática se puede interpretar que presenta un comportamiento similar con los grupos control natural positivo (G3) y el grupo tratado con extracto hidroalcohólico al 100% de flor de badea (*Passiflora quadrangularis*) (G4), siendo los más representativos en el gráfico No.1.

En el test Anova de la prueba del alambre el p-valor es de 0.035 con lo cual se acepta la hipótesis alternativa de que al menos un grupo de estudio presenta diferencias sustentables con respecto de los demás.

Al aplicar el post estadístico Tukey HSD al 95% de comparaciones múltiples (Cuadro No.9), se encuentran que existen dos grupos homogéneos de acción, el blanco (G1), extracto hidroalcohólico 30% (G6) y extracto hidroalcohólico 65% (G5) los cuales no tardan mucho en realizar el agarre a cuatro patas en un promedio de 2 segundos, mientras que los grupos control natural positivo (G3), extracto hidroalcohólico 100% (G4) y control químico positivo (G2) tardan más tiempo en realizar el agarre a cuatro patas con un promedio de 3 segundos evidenciando el efecto de las sustancias de estudio sobre la actividad motriz y relajación muscular de los animales en este grupo homogéneo.

Estos resultados tienen similitud con estudios realizados a otras especies de *Passiflora*.

Un estudio de *Passiflora coerulea*, determina que el extracto (6 mg/kg) administrado a ratones en la prueba de alambre horizontal, tuvieron una acción miorrelajante, por lo tanto, concluyen que posee acciones ansiolíticas sin inducir sedación total. (WOLFMAN, C. y otros. 1994)

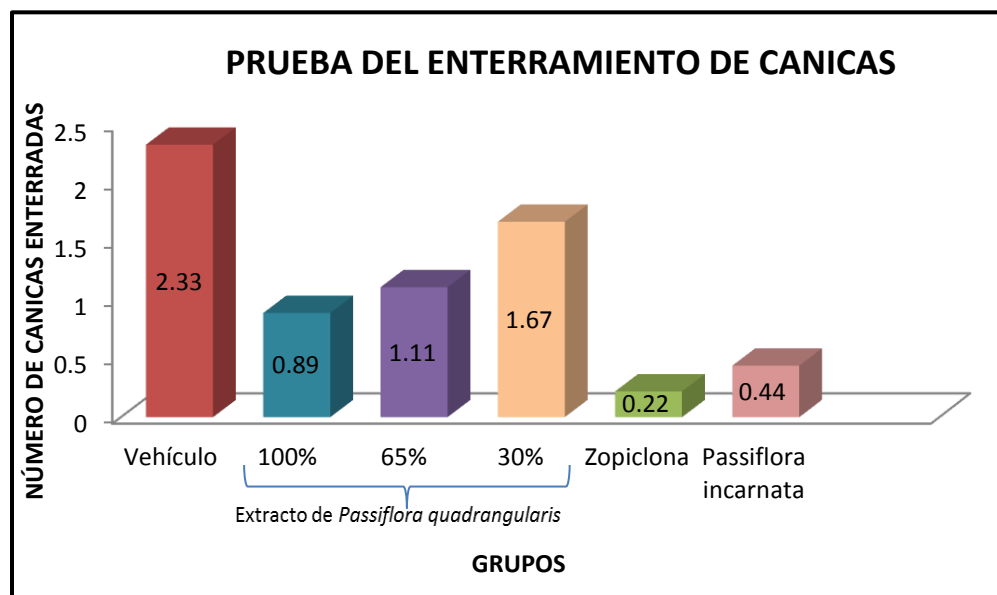
En otro trabajo, los efectos del extracto metanólico de las hojas de *P. foetida*, se evaluaron en ratones utilizando pruebas de comportamiento. El extracto (100.200 y 300 mg/kg), administrado por vía i.p, fue capaz de disminuir el tiempo de inmovilidad de los ratones en pruebas de suspensión como el realizado en este estudio. (SANTOSH, P. y otros. 2011)

### 3.6.2 PRUEBA DEL ENTERRAMIENTO DE CANICAS

**CUADRO No. 11 ANÁLISIS ESTADÍSTICO DE LA PRUEBA DEL ENTERRAMIENTO DE CANICAS PARA LA EVALUACIÓN DEL EFECTO ANSIOLÍTICO DEL EXTRACTO HIDROALCÓHOLICO DE FLOR DE BADEA (*Passiflora quadrangularis*) EN RATONES (*Mus musculus*). BIOTERIO DE LA ESCUELA DE BIOQUÍMICA Y FARMACIA. FACULTAD DE CIENCIAS. ESPOCH. JULIO 2014.**

Grupo	Tratamiento	$\bar{X}$ Número de canicas enterradas	Tukey HDS 95% (Grupos Homogéneos)
G1 (Blanco)	Vehículo (Suero Fisiológico: Glicerina 80:20)	2.33 ± 0.58	X
G2 (Control Químico)	Zopiclona	0.22 ± 0.19	X
G3 (Control Natural)	<i>Passiflora incarnata</i>	0.44 ± 0.39	XX
G4	Extracto <i>Passiflora quadrangularis</i> 100%	0.89 ± 0.38	XX
G5	Extracto <i>Passiflora quadrangularis</i> 65%	1.11 ± 0.69	XX X
G6	Extracto <i>Passiflora quadrangularis</i> 30%	1.67 ± 0.58	X X

**GRÁFICO No. 2 DETERMINACIÓN DE LA PRUEBA DEL ENTERRAMIENTO DE CANICAS APLICADA A CADA GRUPO DE RATONES (*Mus musculus*) LUEGO DE LA ADMINISTRACIÓN DE LOS DIFERENTES TRATAMIENTOS. BIOTERIO DE LA ESCUELA DE BIOQUÍMICA Y FARMACIA. FACULTAD DE CIENCIAS. ESPOCH. JULIO 2014.**



**CUADRO No. 12 TEST ANOVA PARA PRUEBA DEL ENTERRAMIENTO DE CANICAS. BIOTERIO DE LA ESCUELA DE BIOQUÍMICA Y FARMACIA. FACULTAD DE CIENCIAS. ESPOCH. JULIO 2014.**

Anova Un Factor					
Variable Respuesta:	PRUEBA DEL ENTERRAMIENTO DE CANICAS (Número)				
Variable Explicativa:	GRUPOS DE ESTUDIO				
Número de Casos:	18				
	Suma de Cuadrados	G.L.	Cuadrado Medio	F-valor	p-valor
Entre Grupos	9.2607	5	1.8521	7.5004	0.0021
Dentro Grupos	2.9633	12	0.2469		
Total (corr.)	12.2240	17			

## ANÁLISIS DE LOS RESULTADOS

El propósito de esta prueba es determinar el grado de ansiedad de los animales de experimentación mientras más canicas entierren significa que más alertas están frente a agentes externos posiblemente amenazadores, el blanco (G1) es el que más canicas enterró y es natural al no ser tratado con ninguno tipo de sustancia ansiolítica, por otra parte los grupos de control químico positivo (G2) y control químico natural (G3) son los que menos canicas enterraron y por ende menos influenciados por agentes externos demuestran un mayor grado de relajación, en tanto que los grupos G4, G5 y G6 presentan un efecto progresivo en su comportamiento de alerta al enterrar las canicas.

En el test Anova de la prueba el p-valor es de 0.0021 estableciendo diferencias estadísticamente significativas entre los grupos de estudio.

Según el análisis de Tukey HDS 95% del Cuadro No. 11, se establecen tres grupos homogéneos de comportamiento. El primero conformado por el control químico positivo (G2), control natural positivo (G3), y extracto hidroalcohólico 100% (G4) que son los más relajados y no demuestran mayor actividad frente a las canicas, otro grupo está constituido



por los grupos del extracto hidroalcohólico 30% (G5) y extracto hidroalcohólico 65% (G6) que presentan una actividad mayor que el grupo homogéneo anteriormente mencionado, y finalmente tenemos al grupo del blanco (G1) que es el que demuestra total actividad frente a los agentes externos de evaluación, canicas.

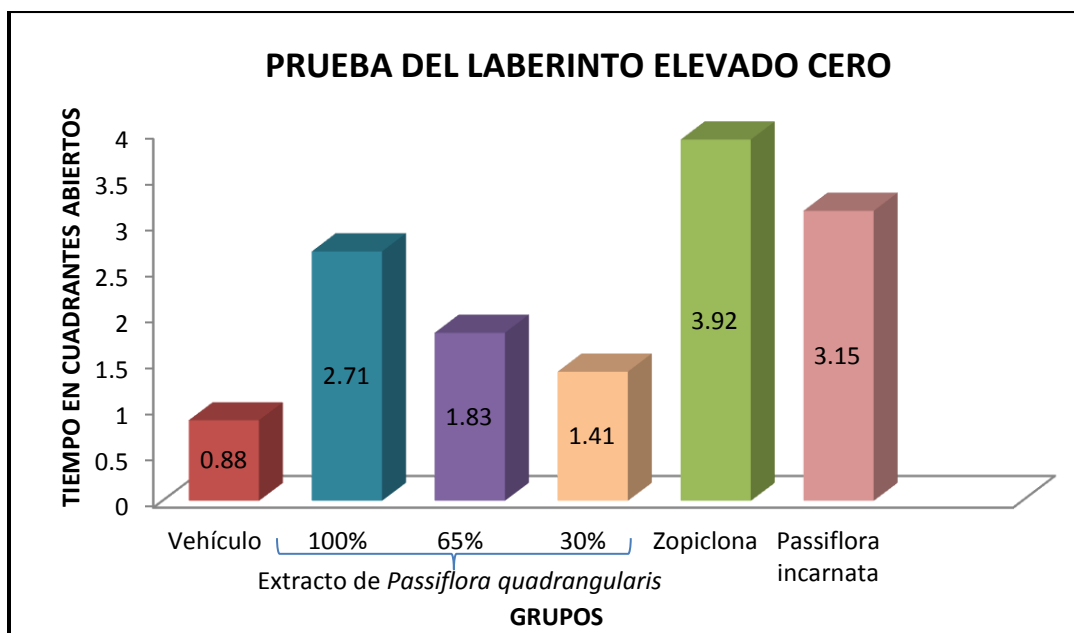
No se pudo comparar estos resultados debido a la inexistencia de datos bibliográficos de especies de *Passiflora*, determinando su actividad ansiolítica con esta prueba.

### 3.6.3 PRUEBA DEL LABERINTO ELEVADO CERO

**CUADRO No. 13 ANÁLISIS ESTADÍSTICO DE LA PRUEBA DEL LABERINTO ELEVADO CERO PARA LA EVALUACIÓN DEL EFECTO ANSIOLÍTICO DEL EXTRACTO HIDROALCÓHOLICO DE FLOR DE BADEA (*Passiflora quadrangularis*) EN RATONES (*Mus musculus*). BIOTERIO DE LA ESCUELA DE BIOQUÍMICA Y FARMACIA. FACULTAD DE CIENCIAS. ESPOCH. JULIO 2014.**

Grupo	Tratamiento	$\bar{X}$ Tiempo en cuadrantes abiertos (min)	Tukey HSD 95% (Grupos Homogéneos)
G1 (Blanco)	Vehículo (Suero Fisiológico: Glicerina 80:20)	0.88 ± 0.96	X
G2 (Control Químico)	Zopiclona	3.92 ± 0.94	X
G3 (Control Natural)	<i>Passiflora incarnata</i>	3.15 ± 0.50	XX
G4	Extracto <i>Passiflora quadrangularis</i> 100%	2.71 ± 0.25	XXX
G5	Extracto <i>Passiflora quadrangularis</i> 65%	1.83 ± 0.25	XXX
G6	Extracto <i>Passiflora quadrangularis</i> 30%	1.41 ± 0.47	XX

**GRÁFICO No. 3 DETERMINACIÓN DE LA PRUEBA DEL LABERINTO ELEVADO CERO APLICADA CADA GRUPO DE RATONES (*Mus musculus*) LUEGO DE LA ADMINISTRACIÓN DE LOS DIFERENTES TRATAMIENTOS. BIOTERIO DE LA ESCUELA DE BIOQUÍMICA Y FARMACIA. FACULTAD DE CIENCIAS. ESPOCH. JULIO 2014.**



**CUADRO No. 14 TEST ANOVA PARA PRUEBA DEL LABERINTO ELEVADO CERO. BIOTERIO DE LA ESCUELA DE BIOQUÍMICA Y FARMACIA. FACULTAD DE CIENCIAS. ESPOCH. JULIO 2014.**

Anova Un Factor					
Variable Respuesta: PRUEBA DEL LABERINTO ELEVADO (Tiempo)					
Variable Explicativa: GRUPOS DE ESTUDIO					
Número de Casos: 18					
	Suma de Cuadrados	G.L.	Cuadrado Medio	F-valor	p-valor
Entre Grupos	19.6516	5	3.9303	9.7386	0.0007
Dentro Grupos	4.8430	12	0.4036		
Total (corr.)	24.4946	17			

## ANÁLISIS DE LOS RESULTADOS

Esta prueba tiene como propósito determinar si en los grupos de estudio disminuye la ansiedad generada por ratones al encontrarse en áreas abiertas y elevadas y esto se refleja en el tiempo que los ratones pasan en ellos.

Esquemáticamente, se observa en el gráfico No 3, que existe un descenso proporcional con respecto al tiempo que los animales permanecen en los cuadrantes abiertos, esto se ve en los grupos desde el control químico positivo (G2) hasta el extracto hidroalcohólico 30% (G6) dejando por fuera el blanco (G1) que es en donde menos tiempo permanecen los animales en los cuadrantes abiertos.

El test de anova expresa un p-valor de 0.0007 con lo cual se establece diferencias estadísticamente significativas entre los grupos de estudio.

Al realizar el análisis post-estadístico de Tukey HSD al 95% (Cuadro No.13), se puede estimar dos grupos homogéneos los conformados por los grupos del control químico positivo (G2), control natural positivo (G3) y extracto hidroalcohólico 100% (G4) que son los que más tiempo permanecen en los cuadrantes abiertos, mientras que los grupos del blanco (G1), extracto hidroalcohólico 65% (G5) y extracto hidroalcohólico 30% (G6) forman un solo grupo homogéneo con tiempo menor de exposición en los cuadrantes abiertos. Se puede llegar a estimar ciertos comportamientos progresivos entre los grupos pero estadísticamente y para establecer diferencias esenciales estos son los dos grupos homogéneos que se expresan.

Estos datos concuerdan con un estudio Farmacoquímico de extractos acuosos de *Passiflora alata* y *Passiflora edulis* donde los resultados farmacológicos mostraron que los extractos de *P.alata* en dosis de 100 y 150 mg/kg y *P.edulis* en dosis de 50, 100 y 150 resultaron ansiolíticos de acuerdo con el modelo del laberinto en cruz elevada (laberinto similar al de este estudio) por vía i.p. (PARIS, F. y otros. 2002)

Por otro lado, en un estudio realizado a la *Passiflora incarnata*, el éter de petróleo, cloroformo, metanol y extractos de agua revelan que toda la planta exhibe efectos ansiolíticos en 100, 125, 200 y 300 mg/kg respectivamente, administrados a ratones y evaluándolos con la prueba del laberinto elevado, a excepción de las raíces que fueron prácticamente carente de efectos ansiolíticos. Otro estudio, realizó experimentos con las partes aéreas de *P. incarnata* (125 mg/kg) administrándoles a ratones por vía oral, 45 minutos después de los tratamientos, se evidenció efecto ansiolítico por el aumento del tiempo en los espacios abiertos. También se encontró otro estudio utilizando la prueba del laberinto para evaluar los efectos conductuales del extracto etanólico de *Passiflora edulis f. flavicarpa* en ratones albinos suizos y determinaron que una dosis única (V.O) de extracto (300 mg/kg y 400 mg/kg), dieron lugar a efectos ansiolíticos a dosis bajas pero sedante en dosis altas. (DENG, J. 2010) (KAMALDEEP, D. y otros. 2001) (KUMAR, S. 2002)

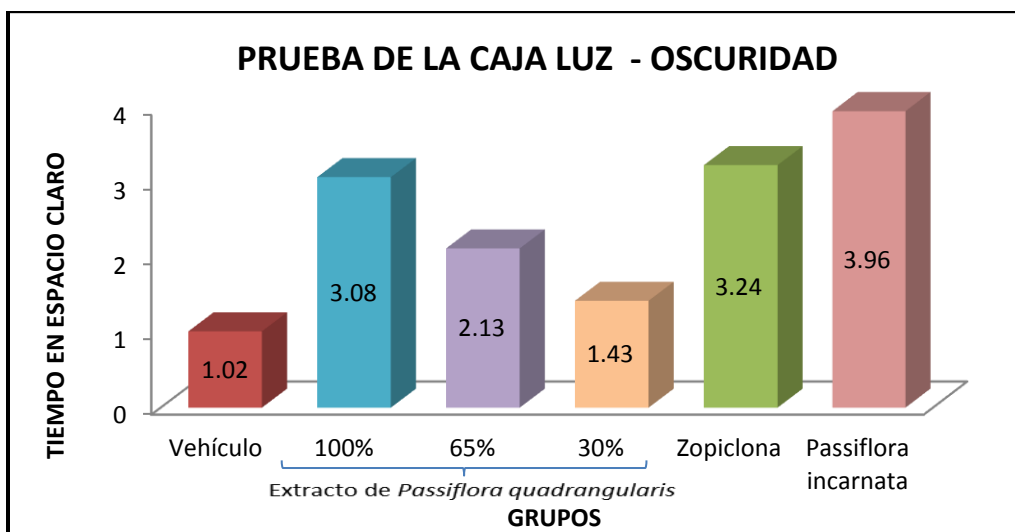
### 3.6.4 PRUEBA DE LA CAJA LUZ – OSCURIDAD

#### 3.5.4.1 Tiempo en el espacio claro

**CUADRO No. 15 ANÁLISIS ESTADÍSTICO DEL TIEMPO EN EL ESPACIO CLARO DE LA CAJA LUZ-OSCURIDAD PARA LA EVALUACIÓN DEL EFECTO ANSIOLÍTICO DEL EXTRACTO HIDROALCÓHOLICO DE FLOR DE BADEA (*Passiflora quadrangularis*) EN RATONES (*Mus musculus*). BIOTERIO DE LA ESCUELA DE BIOQUÍMICA Y FARMACIA. FACULTAD DE CIENCIAS. ESPOCH. JULIO 2014.**

Grupo	Tratamiento	$\bar{X}$ Tiempo en el espacio claro (min)	Tukey HSD 95% (Grupos Homogéneos)
G1 (Blanco)	Vehículo (Suero Fisiológico: Glicerina 80:20)	1.02 ± 0.39	X
G2 (Control Químico)	Zopiclona	3.24 ± 0.84	XX
G3 (Control Natural)	<i>Passiflora incarnata</i>	3.96 ± 0.45	X
G4	Extracto <i>Passiflora quadrangularis</i> 100%	3.08 ± 0.34	XX
G5	Extracto <i>Passiflora quadrangularis</i> 65%	2.13 ± 0.66	X X
G6	Extracto <i>Passiflora quadrangularis</i> 30%	1.43 ± 0.76	X

**GRÁFICO No. 4 DETERMINACIÓN DEL TIEMPO QUE EL ANIMAL PERMANECIÓ EN EL ESPACIO CLARO DE LA CAJA LUZ-OSCURIDAD APLICADA A CADA GRUPO DE RATONES (*Mus musculus*) LUEGO DE LA ADMINISTRACIÓN DE LOS DIFERENTES TRATAMIENTOS. BIOTERIO DE LA ESCUELA DE BIOQUÍMICA Y FARMACIA. FACULTAD DE CIENCIAS. ESPOCH. JULIO 2014.**



**CUADRO No. 16 TEST ANOVA PARA EL TIEMPO EN EL ESPACIO CLARO DE LA CAJA LUZ-OSCURIDAD. BIOTERIO DE LA ESCUELA DE BIOQUÍMICA Y FARMACIA. FACULTAD DE CIENCIAS. ESPOCH. JULIO 2014.**

Anova Un Factor					
Variable Respuesta: PRUEBA DE LA CAJA LUZ - OSCURIDAD TEC					
Variable Explicativa: GRUPOS DE ESTUDIO					
Número de Casos: 18					
	Suma de Cuadrados	G.L.	Cuadrado Medio	F-valor	p-valor
Entre Grupos	19.5443	5	3.9089	10.7426	0.0004
Dentro Grupos	4.3664	12	0.3639		
Total (corr.)	23.9107	17			

## ANÁLISIS DE LOS RESULTADOS

Este factor se evalúa en la caja luz – oscuridad con el propósito de determinar en los grupos el aumento de tiempo que pasan en la parte iluminada de la caja ya que esto indica bajos niveles de ansiedad en ratones albinos.

Esquemáticamente se observa en el gráfico No.4, que el grupo G3 es el que más tiempo presenta en la zona clara seguida muy de cerca por el grupo G2, en tanto que los grupos G4, G5 y G6 demuestran un descenso progresivo en su permanencia en la zona clara teniendo que van desde 3.02 hasta 1.42 minutos que permanecen en la zona clara.

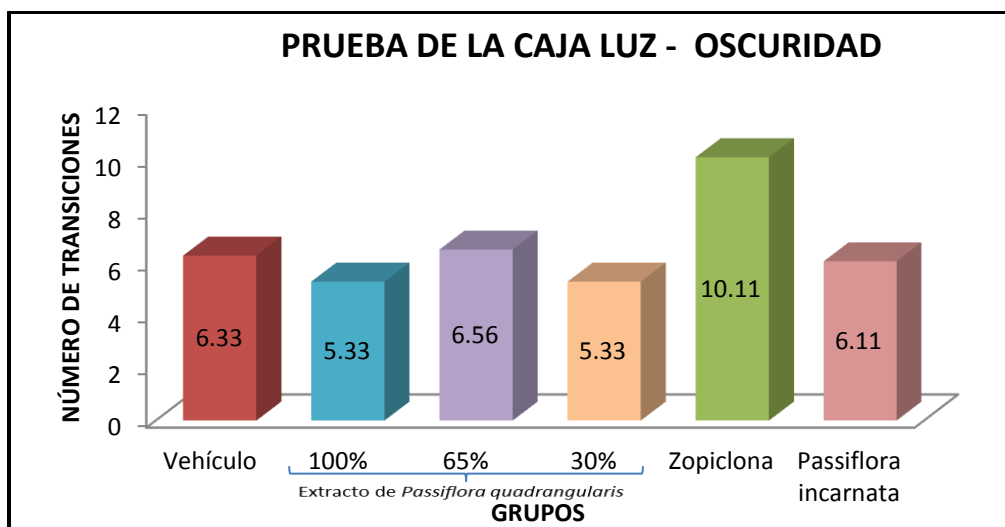
El p-valor observado en el test Anova es de 0.0004 lo que claramente indica diferencia estadísticamente significativa, y en el análisis post – estadístico de Tukey HSD al 95% de comparaciones múltiples (Cuadro No.15), se forman dos grupos homogéneos uno conformado por los grupos G1 y G6 que son los que menos tiempo permanecen en la zona clara, en tanto que los grupos G3, G2, G4 y G5 son los que más tiempo permanecen en la zona clara.

### 3.6.4.2 Número de Transiciones

**CUADRO No. 17 ANÁLISIS ESTADÍSTICO DEL NÚMERO DE TRANSICIONES EN LA PRUEBA DE LA CAJA LUZ-OSCURIDAD PARA LA EVALUACIÓN DEL EFECTO ANSIOLÍTICO DEL EXTRACTO HIDROALCÓHOLICO DE FLOR DE BADEA (*Passiflora quadrangularis*) EN RATONES (*Mus musculus*). BIOTERIO DE LA ESCUELA DE BIOQUÍMICA Y FARMACIA. FACULTAD DE CIENCIAS. ESPOCH. JULIO 2014.**

Grupo	Tratamiento	$\bar{X}$ Número de Transiciones	Tukey HSD 95%(Grupos Homogéneos)
G1 (Blanco)	Vehículo (Suero Fisiológico: Glicerina 80:20)	6.33 ± 4.33	X
G2 (Control Químico)	Zopiclona	10.11 ± 2.59	X
G3 (Control Natural)	<i>Passiflora incarnata</i>	6.11 ± 3.67	X
G4	Extracto <i>Passiflora quadrangularis</i> 100%	5.33 ± 1.86	X
G5	Extracto <i>Passiflora quadrangularis</i> 65%	6.56 ± 1.26	X
G6	Extracto <i>Passiflora quadrangularis</i> 30%	5.33 ± 2.65	X

**GRÁFICO No. 5 DETERMINACIÓN DEL NÚMERO DE TRANSICIONES REALIZADOS POR EL ANIMAL EN LA PRUEBA DE LA CAJA LUZ-OSCURIDAD APLICADA A CADA GRUPO DE RATONES (*Mus musculus*) LUEGO DE LA ADMINISTRACIÓN DE LOS DIFERENTES TRATAMIENTOS. BIOTERIO DE LA ESCUELA DE BIOQUÍMICA Y FARMACIA. FACULTAD DE CIENCIAS. ESPOCH. JULIO 2014.**



**CUADRO. No. 18 TEST ANOVA PARA EL NÚMERO DE TRANSICIONES EN LA PRUEBA DE LA CAJA LUZ-OSCURIDAD. BIOTERIO DE LA ESCUELA DE BIOQUÍMICA Y FARMACIA. FACULTAD DE CIENCIAS. ESPOCH. JULIO 2014.**

Anova Un Factor					
Variable Respuesta:	PRUEBA DE LA CAJA LUZ - OSCURIDAD NT				
Variable Explicativa:	GRUPOS DE ESTUDIO				
Número de Casos:	18				
	Suma de Cuadrados	G.L.	Cuadrado Medio	F-valor	p-valor
Entre Grupos	47.5314	5	9.5063	1.1184	0.4013
Dentro Grupos	102.0011	12	8.5001		
Total (corr.)	149.5325	17			

## ANÁLISIS DE LOS RESULTADOS

Se determinó el número de transiciones con el propósito de determinar la veces que los ratones trataban de evitar cada uno de los compartimientos de la caja luz – oscuridad, y a la vez, para analizar la locomoción.

Esquemáticamente solo se puede diferenciar claramente que el grupo G2 es el que presenta el mayor número de transiciones en relación a los demás grupos de estudio. El p-valor expresado es de 0.4013 mayor a 0.05 con lo cual no se establece diferencia estadísticamente significativa.

En el análisis post – estadístico de Tukey HSD al 95% de comparaciones múltiples (Cuadro No.17), indica que no existe diferencia estadística entre los grupos de estudio todos presentan el mismo comportamiento en relación a este parámetro de evaluación.

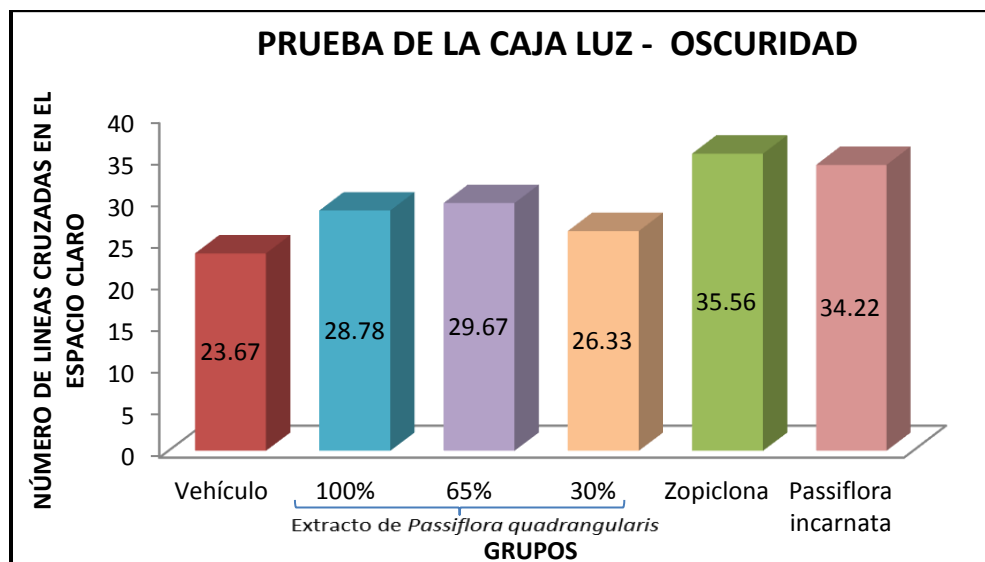
### 3.6.4.3 Líneas cruzadas en el espacio claro

**CUADRO No. 19 ANÁLISIS ESTADÍSTICO DEL NÚMERO DE LÍNEAS CRUZADAS EN EL ESPACIO CLARO DE LA CAJA LUZ-OSCURIDAD PARA LA EVALUACIÓN DEL EFECTO ANSIOLÍTICO DEL EXTRACTO HIDROALCÓHOLICO DE FLOR DE BADEA (*Passiflora quadrangularis*) EN RATONES (*Mus musculus*). BIOTERIO DE LA ESCUELA DE BIOQUÍMICA Y FARMACIA. FACULTAD DE CIENCIAS. ESPOCH. JULIO 2014.**

Grupo	Tratamiento	$\bar{X}$ Número de líneas cruzadas en el espacio claro	Tukey HSD 95%(Grupos Homogéneos)
G1 (Blanco)	Vehículo (Suero Fisiológico: Glicerina 80:20)	23.66 ± 4.04	X
G2 (Control Químico)	Zopiclona	35.56 ± 8.51	X
G3 (Control Natural)	<i>Passiflora incarnata</i>	34.22 ± 4.86	X
G4	Extracto <i>Passiflora quadrangularis</i> 100%	28.78 ± 7.13	X
G5	Extracto <i>Passiflora quadrangularis</i> 65%	29.67 ± 4.67	X
G6	Extracto <i>Passiflora quadrangularis</i> 30%	26.33 ± 1.86	X



**GRÁFICO No. 6 DETERMINACIÓN DEL NÚMERO DE LÍNEAS CRUZADAS POR EL ANIMAL EN EL ESPACIO CLARO DE LA CAJA LUZ-OSCURIDAD APLICADA A CADA GRUPO DE RATONES (*Mus musculus*) LUEGO DE LA ADMINISTRACIÓN DE LOS DIFERENTES TRATAMIENTOS. BIOTERIO DE LA ESCUELA DE BIOQUÍMICA Y FARMACIA. FACULTAD DE CIENCIAS. ESPOCH. JULIO 2014.**



**CUADRO No. 20 TEST ANOVA PARA EL NÚMERO DE LÍNEAS CRUZADAS EN EL ESPACIO CLARO DE LA CAJA LUZ-OSCURIDAD. BIOTERIO DE LA ESCUELA DE BIOQUÍMICA Y FARMACIA. FACULTAD DE CIENCIAS. ESPOCH. JULIO 2014.**

Anova Un Factor					
Variable Respuesta: PRUEBA DE LA CAJA LUZ - OSCURIDAD LEC					
Variable Explicativa: GRUPOS DE ESTUDIO					
Número de Casos: 18					
	Suma de Cuadrados	G.L.	Cuadrado Medio	F-valor	p-valor
Entre Grupos	309.9832	5	61.9966	1.9739	0.1552
Dentro Grupos	376.8951	12	31.4079		
Total (corr.)	686.8783	17			

## ANÁLISIS DE LOS RESULTADOS

Este factor se realizó con el propósito de evaluar la locomoción de los ratones en espacios claros, ambientes que evitan por ser animales nocturnos.

Esquemáticamente solo se puede diferenciar claramente que el grupo G2 es el que presenta el mayor número de transiciones en relación a los demás grupos de estudio. Se puede apreciar un descenso progresivo en el número de las líneas cruzadas en el espacio claro que va desde 35.56 veces cruzadas en el grupo G2 hasta el grupo G6 que presentan 26.33 veces cruzadas las líneas en la zona clara.

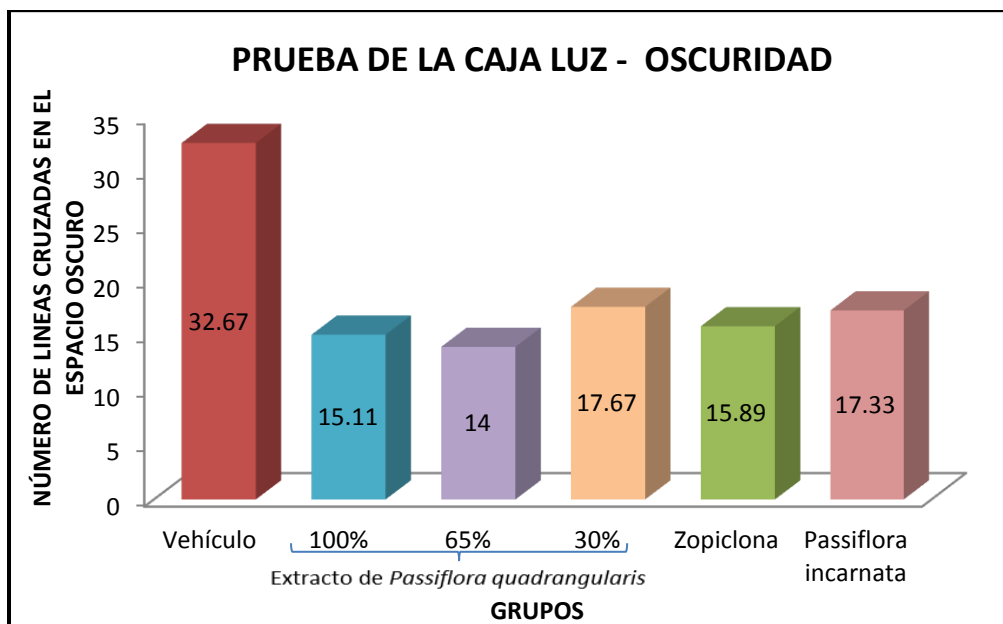
El p-valor observado es de 0.1552 con lo cual no se establece diferencia estadísticamente significativa. En el análisis post – estadístico de Tukey HSD al 95% de comparaciones múltiples (Cuadro No. 19), indica que existe un solo grupo homogéneo, no existe diferencia estadísticamente significativa por lo tanto con respecto a esta prueba todos los grupos de estudio presentan el mismo accionar.

#### 3.6.4.4 Líneas cruzadas en el espacio oscuro

**CUADRO No. 21 ANÁLISIS ESTADÍSTICO DEL NÚMERO DE LÍNEAS CRUZADAS EN EL ESPACIO OSCURO DE LA CAJA LUZ-OSCURIDAD PARA LA EVALUACIÓN DEL EFECTO ANSIOLÍTICO DEL EXTRACTO HIDROALCÓHOLICO DE FLOR DE BADEA (*Passiflora quadrangularis*) EN RATONES (*Mus musculus*). BIOTERIO DE LA ESCUELA DE BIOQUÍMICA Y FARMACIA. FACULTAD DE CIENCIAS. ESPOCH. JULIO 2014.**

Grupo	Tratamiento	$\bar{X}$ Número de líneas cruzadas en el espacio oscuro	Tukey HSD 95% (Grupos Homogéneos)
G1 (Blanco)	Vehículo (Suero Fisiológico: Glicerina 80:20)	32.67 ± 11.67	X
G2 (Control Químico)	Zopiclona	15.89 ± 9.20	X
G3 (Control Natural)	<i>Passiflora incarnata</i>	17.33 ± 8.21	X
G4	Extracto <i>Passiflora quadrangularis</i> 100%	15.11 ± 1.35	X
G5	Extracto <i>Passiflora quadrangularis</i> 65%	14.00 ± 1.53	X
G6	Extracto <i>Passiflora quadrangularis</i> 30%	17.67 ± 4.05	X

**GRÁFICO No. 7 DETERMINACIÓN DEL NÚMERO DE LÍNEAS CRUZADAS POR EL ANIMAL EN EL ESPACIO OSCURO DE LA CAJA LUZ-OSCURIDAD APLICADA A CADA GRUPO DE RATONES (*Mus musculus*) LUEGO DE LA ADMINISTRACIÓN DE LOS DIFERENTES TRATAMIENTOS. BIOTERIO DE LA ESCUELA DE BIOQUÍMICA Y FARMACIA. FACULTAD DE CIENCIAS. ESPOCH. JULIO 2014.**



**CUADRO. No. 22 TEST ANOVA PARA EL NÚMERO DE LÍNEAS CRUZADAS EN EL ESPACIO OSCURO DE LA CAJA LUZ-OSCURIDAD. BIOTERIO DE LA ESCUELA DE BIOQUÍMICA Y FARMACIA. FACULTAD DE CIENCIAS. ESPOCH. JULIO 2014.**

Anova Un Factor					
Variable Respuesta: PRUEBA DE LA CAJA LUZ - OSCURIDAD LEO					
Variable Explicativa: GRUPOS DE ESTUDIO					
Número de Casos: 18					
	Suma de Cuadrados	G.L.	Cuadrado Medio	F-valor	p-valor
Entre Grupos	722.5153	5	144.5031	2.8083	0.0663
Dentro Grupos	617.4683	12	51.4557		
Total (corr.)	1339.9836	17			

## ANÁLISIS DE LOS RESULTADOS

Este factor se realizó con el propósito de evaluar la locomoción de los ratones en espacios oscuros siendo su ambiente de preferencia por ser animales nocturnos.

Esquemáticamente el grupo G1 es el que presenta mayor actividad en el campo oscuro apreciándose así un promedio de 32 veces cruzadas las áreas de la zona oscura, en cuanto a los demás grupos se puede observar un comportamiento muy similar casi a la misma altura en la escala de actividad de la zona oscura.

El p-valor observado es de 0.0663 por lo cual se acepta la hipótesis nula y se define que no existe diferencia significativa entre los grupos de estudio.

Al aplicar el post estadístico Tukey HSD al 95% de comparaciones múltiples (Cuadro No.21), se determina que todos los grupos forman un solo caso homogéneo la actividad en la zona oscura es la misma en todos los grupos de estudio.

Se asume que no hay respuesta en los tres factores analizados que resultaron ser grupos homogéneos en esta prueba de la caja luz-oscuridad porque los animales pudieron estar cansados luego de la realización de las otras pruebas o a su vez porque la planta en estudio no tiene actividad locomotora.

A pesar de estos resultados, se encontró un estudio de *Passiflora incarnata* (especie utilizada en este estudio) donde determinaron que el extracto hidroalcohólico a 400 mg/kg evidenció propiedades ansiolíticas por aumento de la locomoción y el tiempo empleado en lado de la luz en la caja oscura luz – oscuridad. (SOULIMANI, R. 1997)

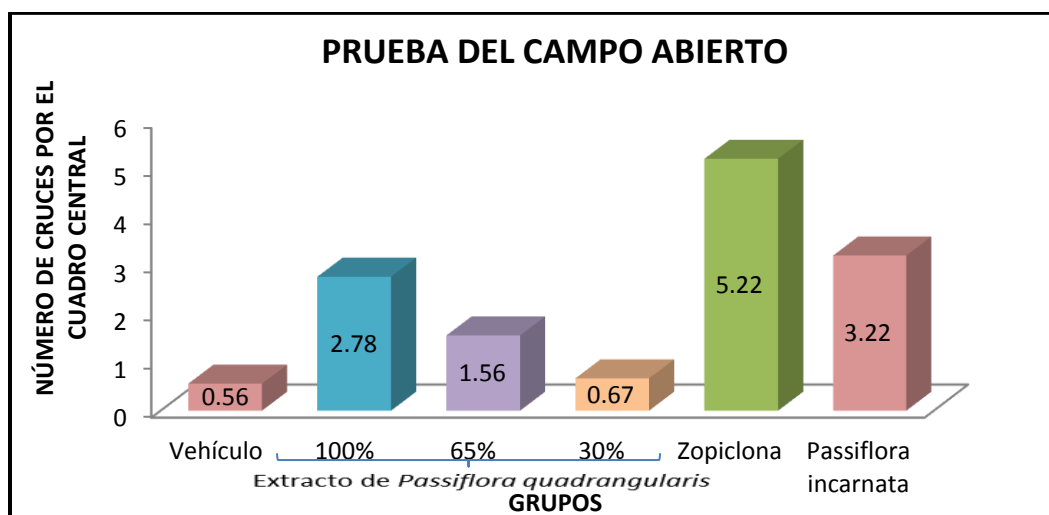
### 3.6.5 PRUEBA DEL CAMPO ABIERTO

#### 3.6.5.1 Número de cruces por el cuadro central

**CUADRO No. 23 ANÁLISIS ESTADÍSTICO DEL NÚMERO DE VECES QUE EL ANIMAL CRUZA EL CUADRO CENTRAL EN LA PRUEBA DEL CAMPO ABIERTO PARA LA EVALUACIÓN DEL EFECTO ANSIOLÍTICO DEL EXTRACTO HIDROALCÓHOLICO DE FLOR DE BADEA (*Passiflora quadrangularis*) EN RATONES (*Mus musculus*). BIOTERIO DE LA ESCUELA DE BIOQUÍMICA Y FARMACIA. FACULTAD DE CIENCIAS. ESPOCH. JULIO 2014.**

Grupo	Tratamiento	$\bar{X}$ Número de cruces por el cuadro central	Tukey HSD 95% (Grupos Homogéneos)
G1 (Blanco)	Vehículo (Suero Fisiológico: Glicerina 80:20)	0.56 ± 0.19	X
G2 (Control Químico)	Zopiclona	5.22 ± 0.39	X
G3 (Control Natural)	<i>Passiflora incarnata</i>	3.22 ± 0.69	X
G4	Extracto <i>Passiflora</i> <i>quadrangularis</i> 100%	2.78 ± 0.51	X
G5	Extracto <i>Passiflora</i> <i>quadrangularis</i> 65%	1.56 ± 0.39	X
G6	Extracto <i>Passiflora</i> <i>quadrangularis</i> 30%	0.67 ± 0.33	X

**GRÁFICO No. 8 DETERMINACIÓN DEL NÚMERO DE VECES QUE EL ANIMAL CRUZA EL CUADRO CENTRAL EN LA PRUEBA DEL CAMPO ABIERTO APLICADA A CADA GRUPO DE RATONES (*Mus musculus*) LUEGO DE LA ADMINISTRACIÓN DE LOS DIFERENTES TRATAMIENTOS. BIOTERIO DE LA ESCUELA DE BIOQUÍMICA Y FARMACIA. FACULTAD DE CIENCIAS. ESPOCH. JULIO 2014.**



**CUADRO. No. 24 TEST ANOVA PARA EL NÚMERO DE VECES QUE EL ANIMAL CRUZA EL CUADRO CENTRAL EN LA PRUEBA DEL CAMPO ABIERTO. BIOTERIO DE LA ESCUELA DE BIOQUÍMICA Y FARMACIA. FACULTAD DE CIENCIAS. ESPOCH. JULIO 2014.**

Anova Un Factor					
=====					
Variable Respuesta:	PRUEBA DELCAMPO ABIERTO CC				
Variable Explicativa:	GRUPOS DE ESTUDIO				
Número de Casos:	18				
-----					
	Suma de Cuadrados	G.L.	Cuadrado Medio	F-valor	p-valor
-----					
Entre Grupos	47.6317	5	9.5263	48.2150	0.0002E-3
Dentro Grupos	2.3710	12	0.1976		
-----					
Total (corr.)	50.0027	17			

## ANÁLISIS DE LOS RESULTADOS

En el gráfico se evidencia que el grupo G2 es el que más veces ha ingresado al cuadro central con una media de 5 veces , en tanto que el grupo G6 es el que menos veces ingreso al cuadro central con una media de 0.6 veces. Se describe un comportamiento descendente progresivo con respecto a la actividad de ingresar al cuadro central que va desde el grupo G2 hasta el grupo G6, sin considerar al grupo G1 que es el blanco referencial.

El p-valor evidenciado es de 0.0002E-3 con lo cual indiscutiblemente se establece diferencia estadísticamente significativa.

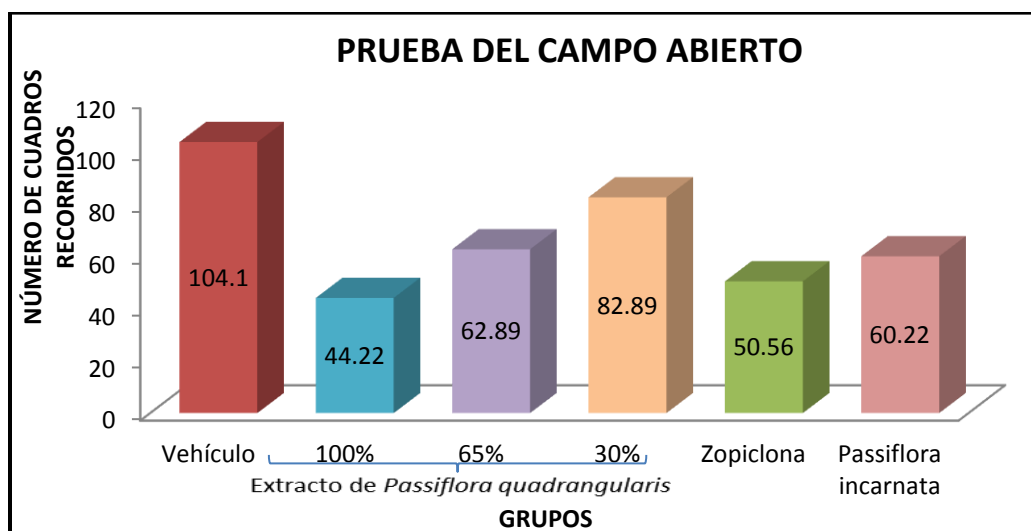
Según el post estadístico Tukey HSD al 95% de comparaciones múltiples (Cuadro No.23), el grupo G2 es el que más veces ingresa al cuadro central y ningún otro grupo demuestra este tipo de actividad, consecutivamente los grupo G4 y G3 forman un solo grupo homogéneo de actividad, y por último los grupos G1, G6 y G5 son los que menos veces ingresan al cuadro central y su comportamiento es homogéneo.

### 3.6.5.2 Deambulaci3n

**CUADRO No. 25 ANÁLISIS ESTADÍSTICO DE LA DEAMBULACIÓN EN LA PRUEBA DEL CAMPO ABIERTO PARA LA EVALUACIÓN DEL EFECTO ANSIOLÍTICO DEL EXTRACTO HIDROALCÓHOLICO DE FLOR DE BADEA (*Passiflora quadrangularis*) EN RATONES (*Mus musculus*). BIOTERIO DE LA ESCUELA DE BIOQUÍMICA Y FARMACIA. FACULTAD DE CIENCIAS. ESPOCH. JULIO 2014.**

Grupo	Tratamiento	$\bar{X}$ Número de cuadros recorridos	Tukey HSD 95% (Grupos Homogéneos)
G1 (Blanco)	Vehículo (Suero Fisiológico: Glicerina 80:20)	104.11 ± 23.52	X
G2 (Control Químico)	Zopiclona	50.56 ± 26.70	X
G3 (Control Natural)	<i>Passiflora incarnata</i>	60.22 ± 5.67	X
G4	Extracto <i>Passiflora quadrangularis</i> 100%	44.22 ± 13.36	X
G5	Extracto <i>Passiflora quadrangularis</i> 65%	62.89 ± 20.36	X
G6	Extracto <i>Passiflora quadrangularis</i> 30%	82.89 ± 23.73	X

**GRÁFICO No. 9 DETERMINACIÓN DE LA DEAMBULACIÓN DEL ANIMAL EN LA PRUEBA DEL CAMPO ABIERTO APLICADA A CADA GRUPO DE RATONES (*Mus musculus*) LUEGO DE LA ADMINISTRACIÓN DE LOS DIFERENTES TRATAMIENTOS. BIOTERIO DE LA ESCUELA DE BIOQUÍMICA Y FARMACIA. FACULTAD DE CIENCIAS. ESPOCH. JULIO 2014.**



**CUADRO. No. 26 TEST ANOVA PARA LA DEAMBULACIÓN EN LA PRUEBA DEL CAMPO ABIERTO. BIOTERIO DE LA ESCUELA DE BIOQUÍMICA Y FARMACIA. FACULTAD DE CIENCIAS. ESPOCH. JULIO 2014.**

Anova Un Factor					
Variable Respuesta: PRUEBA DEL CAMPO ABIERTO DEA					
Variable Explicativa: GRUPOS DE ESTUDIO					
Número de Casos: 18					
	Suma de Cuadrados	G.L.	Cuadrado Medio	F-valor	p-valor
Entre Grupos	7441.1274	5	1488.2255	3.6384	0.0310
Dentro Grupos	4908.4193	12	409.0349		
Total (corr.)	12349.5467	17			

## ANÁLISIS DE LOS RESULTADOS

A excepción de la alta actividad en el grupo G1 los demás grupos presentan un comportamiento casi similar que será comprobado con los test estadísticos.

El P-valor estimado es de 0.0310 permitido para aceptar la hipótesis alternativa que establece que si existe diferencia significativa en los grupos de estudio.

El grupo homogéneo que se puede observar en el post estadístico Tukey HSD al 95% de comparaciones múltiples (Cuadro No. 25), es el constituido por los grupos G2, G3, G5 y G6, en tanto que el grupo G4 es el de menor actividad y el G1 de mayor actividad.

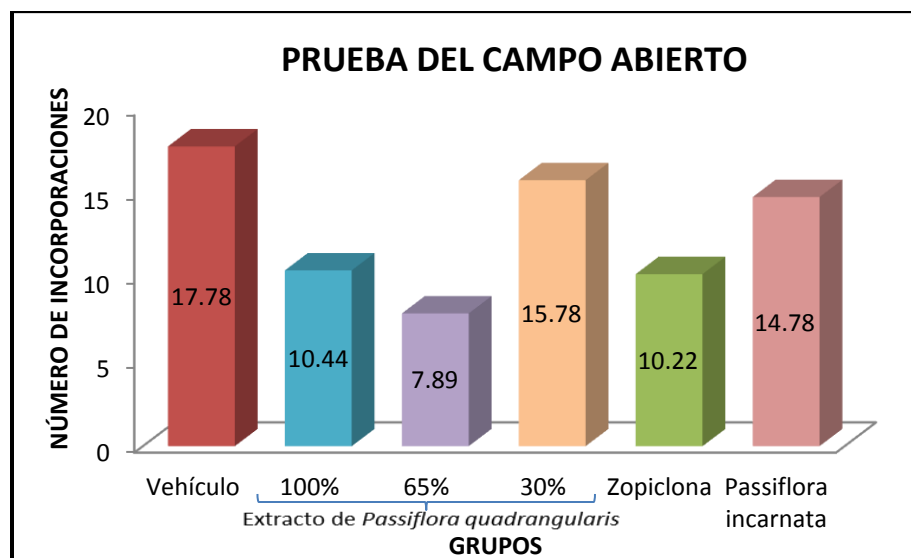


### 3.6.5.3 Incorporaciones

**CUADRO No. 27 ANÁLISIS ESTADÍSTICO DE LAS INCORPORACIONES EN LA PRUEBA DEL CAMPO ABIERTO PARA LA EVALUACIÓN DEL EFECTO ANSIOLÍTICO DEL EXTRACTO HIDROALCÓHOLICO DE FLOR DE BADEA (*Passiflora quadrangularis*) EN RATONES (*Mus musculus*). BIOTERIO DE LA ESCUELA DE BIOQUÍMICA Y FARMACIA. FACULTAD DE CIENCIAS. ESPOCH. JULIO 2014.**

Grupo	Tratamiento	$\bar{X}$ Número de Incorporaciones	Tukey HSD 95% (Grupos Homogéneos)
G1 (Blanco)	Vehículo (Suero Fisiológico: Glicerina 80:20)	17.78 ± 2.67	X
G2 (Control Químico)	Zopiclona	10.22 ± 2.01	XX
G3 (Control Natural)	<i>Passiflora incarnata</i>	14.78 ± 2.84	XX
G4	Extracto <i>Passiflora quadrangularis</i> 100%	10.44 ± 2.78	XX
G5	Extracto <i>Passiflora quadrangularis</i> 65%	7.89 ± 3.34	X
G6	Extracto <i>Passiflora quadrangularis</i> 30%	15.78 ± 3.67	XX

**GRÁFICO No. 10 DETERMINACIÓN DE LAS INCORPORACIONES DEL ANIMAL EN LA PRUEBA DEL CAMPO ABIERTO APLICADA A CADA GRUPO DE RATONES (*Mus musculus*) LUEGO DE LA ADMINISTRACIÓN DE LOS DIFERENTES TRATAMIENTOS. BIOTERIO DE LA ESCUELA DE BIOQUÍMICA Y FARMACIA. FACULTAD DE CIENCIAS. ESPOCH. JULIO 2014.**



**CUADRO No. 28 TEST ANOVA PARA LAS INCORPORACIONES EN LA PRUEBA DEL CAMPO ABIERTO. BIOTERIO DE LA ESCUELA DE BIOQUÍMICA Y FARMACIA. FACULTAD DE CIENCIAS. ESPOCH. JULIO 2014.**

Anova Un Factor					
Variable Respuesta: PRUEBA DELCAMPO ABIERTO INC					
Variable Explicativa: GRUPOS DE ESTUDIO					
Número de Casos: 18					
	Suma de Cuadrados	G.L.	Cuadrado Medio	F-valor	p-valor
Entre Grupos	221.6040	5	44.3208	5.1578	0.0093
Dentro Grupos	103.1151	12	8.5929		
Total (corr.)	324.7191	17			

## ANÁLISIS DE LOS RESULTADOS

En el presente gráfico no se puede establecer una diferencia marcada entre los grupos de estudio, lo más notorio es que el grupo G1 es el que más veces se incorporó en sus patas traseras en tanto que los grupos G2, G4 y G5 son los que menos veces presentaron incorporaciones en sus sujetos de estudio.

El p-valor es de 0.0093 con lo cual existe diferencia estadísticamente significativa entre los grupos de estudio.

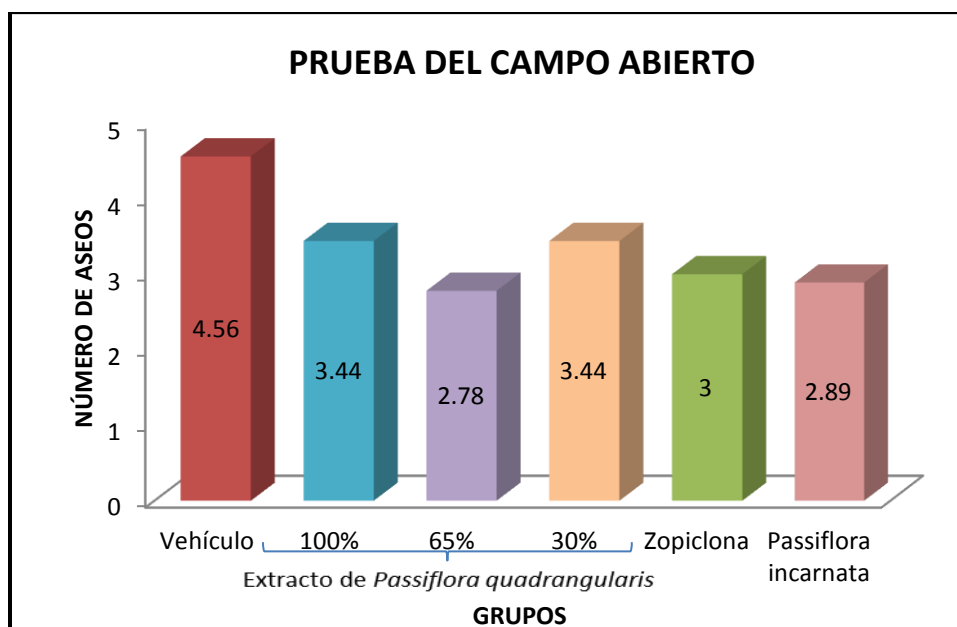
Según el post estadístico Tukey HSD al 95% de comparaciones múltiples (Cuadro No.27), se evidencia la formación de un grupo homogéneo constituido por los grupos G2, G4, G3 y G6 los mismos que presentan un número de incorporaciones similar entre sí, por debajo de estos valores se encuentra el grupo G5 con un número de incorporaciones alrededor de 7 y el grupo que presenta el máximo de incorporaciones es el grupo G1 con un número de incorporaciones alrededor de 17.

### 3.6.5.4 Aseo

**CUADRO No. 29 ANÁLISIS ESTADÍSTICO DEL ASEO EN LA PRUEBA DEL CAMPO ABIERTO PARA LA EVALUACIÓN DEL EFECTO ANSIOLÍTICO DEL EXTRACTO HIDROALCÓHOLICO DE FLOR DE BADEA (*Passiflora quadrangularis*) EN RATONES (*Mus musculus*). BIOTERIO DE LA ESCUELA DE BIOQUÍMICA Y FARMACIA. FACULTAD DE CIENCIAS. ESPOCH. JULIO 2014.**

Grupo	Tratamiento	$\bar{X}$ Número de Aseos	Tukey HSD 95% (Grupos Homogéneos)
G1 (Blanco)	Vehículo (Suero Fisiológico: Glicerina 80:20)	4.56 ± 1.39	X
G2 (Control Químico)	Zopiclona	3.00 ± 0.88	X
G3 (Control Natural)	<i>Passiflora incarnata</i>	2.89 ± 0.19	X
G4	Extracto <i>Passiflora</i> <i>quadrangularis</i> 100%	3.44 ± 0.51	X
G5	Extracto <i>Passiflora</i> <i>quadrangularis</i> 65%	2.78 ± 1.17	X
G6	Extracto <i>Passiflora</i> <i>quadrangularis</i> 30%	3.44 ± 1.50	X

**GRÁFICO No. 11 DETERMINACIÓN DEL ASEO DEL ANIMAL EN LA PRUEBA DEL CAMPO ABIERTO APLICADA A CADA GRUPO DE RATONES (*Mus musculus*) LUEGO DE LA ADMINISTRACIÓN DE LOS DIFERENTES TRATAMIENTOS. BIOTERIO DE LA ESCUELA DE BIOQUÍMICA Y FARMACIA. FACULTAD DE CIENCIAS. ESPOCH. JULIO 2014.**



**CUADRO No. 30 TEST ANOVA PARA EL ASEO EN LA PRUEBA DEL CAMPO ABIERTO. BIOTERIO DE LA ESCUELA DE BIOQUÍMICA Y FARMACIA. FACULTAD DE CIENCIAS. ESPOCH. JULIO 2014.**

Anova Un Factor					
Variable Respuesta: PRUEBA DELCAMPO ABIERTO AS					
Variable Explicativa: GRUPOS DE ESTUDIO					
Número de Casos: 18					
	Suma de Cuadrados	G.L.	Cuadrado Medio	F-valor	p-valor
Entre Grupos	6.4008	5	1.2802	1.1586	0.3835
Dentro Grupos	13.2594	12	1.1050		
Total (corr.)	19.6602	17			

## ANÁLISIS DE LOS RESULTADOS

En el gráfico se puede observar que no existe una diferencia marcada entre los grupos G2 a G6, sólo el grupo G1 es el que presenta más veces aseo en sus animales de estudio.

El p-valor es de 0.3835 por lo tanto se acepta la hipótesis nula y no se establece diferencia estadísticamente significativa entre los grupos de estudio.

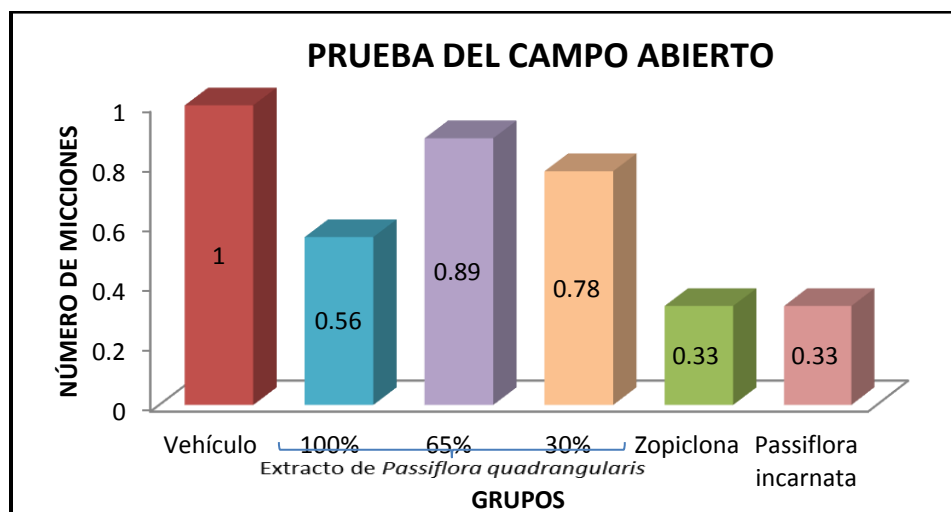
El análisis post estadístico Tukey HSD al 95% de comparaciones múltiples (Cuadro No. 29), indica que todos los grupos presentan la misma actividad frente a este parámetro de evaluación.

### 3.6.5.5 Micción

**CUADRO No. 31 ANÁLISIS ESTADÍSTICO DE MICCIÓN EN LA PRUEBA DEL CAMPO ABIERTO PARA LA EVALUACIÓN DEL EFECTO ANSIOLÍTICO DEL EXTRACTO HIDROALCÓHOLICO DE FLOR DE BADEA (*Passiflora quadrangularis*) EN RATONES (*Mus musculus*). BIOTERIO DE LA ESCUELA DE BIOQUÍMICA Y FARMACIA. FACULTAD DE CIENCIAS. ESPOCH. JULIO 2014.**

Grupo	Tratamiento	$\bar{X}$ Número de Micciones	Tukey HSD 95% (Grupos Homogéneos)
G1 (Blanco)	Vehículo (Suero Fisiológico: Glicerina 80:20)	1.00 ± 0.33	X
G2 (Control Químico)	Zopiclona	0.33 ± 0.33	X
G3 (Control Natural)	<i>Passiflora incarnata</i>	0.33 ± 0.00	X
G4	Extracto <i>Passiflora quadrangularis</i> 100%	0.56 ± 0.19	X
G5	Extracto <i>Passiflora quadrangularis</i> 65%	0.89 ± 0.51	X
G6	Extracto <i>Passiflora quadrangularis</i> 30%	0.78 ± 0.51	X

**GRÁFICO No. 12 DETERMINACIÓN DE MICCIÓN DEL ANIMAL EN LA PRUEBA DEL CAMPO ABIERTO APLICADA A CADA GRUPO DE RATONES (*Mus musculus*) LUEGO DE LA ADMINISTRACIÓN DE LOS DIFERENTES TRATAMIENTOS. BIOTERIO DE LA ESCUELA DE BIOQUÍMICA Y FARMACIA. FACULTAD DE CIENCIAS. ESPOCH. JULIO 2014.**



**CUADRO. No. 32 TEST ANOVA PARA LA MICCIÓN EN LA PRUEBA DEL CAMPO ABIERTO. BIOTERIO DE LA ESCUELA DE BIOQUÍMICA Y FARMACIA. FACULTAD DE CIENCIAS. ESPOCH. JULIO 2014.**

Anova Un Factor					
Variable Respuesta: PRUEBA DELCAMPO ABIERTO M					
Variable Explicativa: GRUPOS DE ESTUDIO					
Número de Casos: 18					
	Suma de Cuadrados	G.L.	Cuadrado Medio	F-valor	p-valor
Entre Grupos	1.2162	5	0.2432	1.8764	0.1724
Dentro Grupos	1.5556	12	0.1296		
Total (corr.)	2.7718	17			

## ANÁLISIS DE LOS RESULTADOS

En el gráfico se puede observar que no existe una diferencia marcada entre los grupos G2 a G6, solo el grupo G1 es el que presenta más veces aseo en sus animales de estudio.

El grupo G3 presenta perfecta reproducibilidad en los datos recolectados, el grupo G1 es el que presenta mayor número de micciones en el ensayo, en tanto que se observa un comportamiento creciente en los datos recolectados desde el grupo G2 hasta el grupo G6.

El P-valor estimado es de 0.1724 con lo cual se acepta la hipótesis nula estableciéndose que no existen diferencias estadísticamente significativas entre los grupos de estudio.

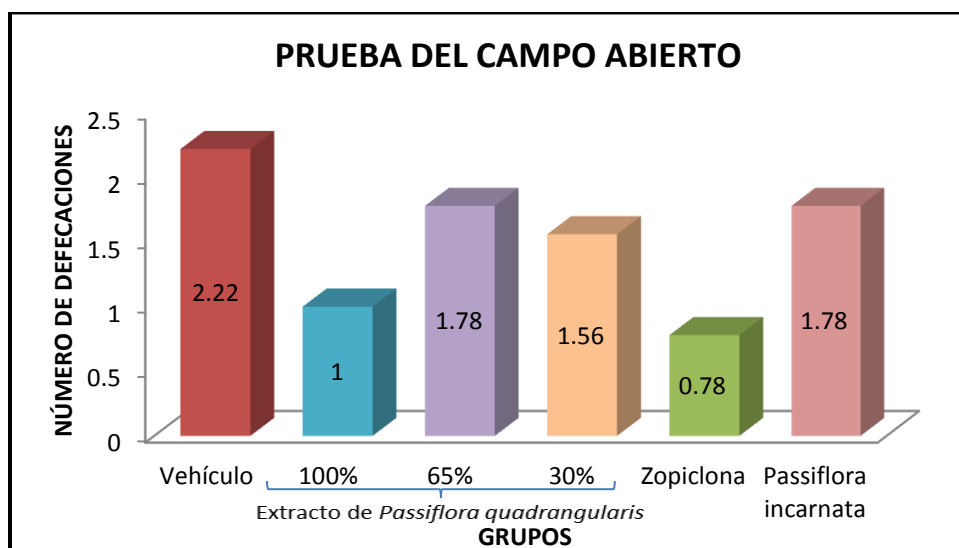
Al realizar el análisis post estadístico Tukey HSD al 95% de comparaciones múltiples (Cuadro No.31), se evidencia que no existen diferencias estadísticamente significativas entre los grupos de estudio.

### 3.6.5.6 Defecación

**CUADRO No. 33 ANÁLISIS ESTADÍSTICO DE DEFECACIÓN EN LA PRUEBA DEL CAMPO ABIERTO PARA LA EVALUACIÓN DEL EFECTO ANSIOLÍTICO DEL EXTRACTO HIDROALCÓHOLICO DE FLOR DE BADEA (*Passiflora quadrangularis*) EN RATONES (*Mus musculus*). BIOTERIO DE LA ESCUELA DE BIOQUÍMICA Y FARMACIA. FACULTAD DE CIENCIAS. ESPOCH. JULIO 2014.**

Grupo	Tratamiento	$\bar{X}$ Número de Defecaciones	Tukey HSD 95% (Grupos Homogéneos)
G1 (Blanco)	Vehículo (Suero Fisiológico: Glicerina 80:20)	2.22 ± 0.19	X
G2 (Control Químico)	Zopiclona	0.78 ± 0.19	X
G3 (Control Natural)	<i>Passiflora incarnata</i>	1.78 ± 0.39	X X
G4	Extracto <i>Passiflora quadrangularis</i> 100%	1.00 ± 0.33	X
G5	Extracto <i>Passiflora quadrangularis</i> 65%	1.78 ± 0.19	X X
G6	Extracto <i>Passiflora quadrangularis</i> 30%	1.56 ± 0.84	X X

**GRÁFICO No. 13 DETERMINACIÓN DE DEFECACIÓN DEL ANIMAL EN LA PRUEBA DEL CAMPO ABIERTO APLICADA A CADA GRUPO DE RATONES (*Mus musculus*) LUEGO DE LA ADMINISTRACIÓN DE LOS DIFERENTES TRATAMIENTOS. BIOTERIO DE LA ESCUELA DE BIOQUÍMICA Y FARMACIA. FACULTAD DE CIENCIAS. ESPOCH. JULIO 2014.**



**CUADRO. No. 34 TEST ANOVA PARA LA DEFECACIÓN EN LA PRUEBA DEL CAMPO ABIERTO. BIOTERIO DE LA ESCUELA DE BIOQUÍMICA Y FARMACIA. FACULTAD DE CIENCIAS. ESPOCH. JULIO 2014.**

Anova Un Factor					
Variable Respuesta: PRUEBA DELCAMPO ABIERTO D					
Variable Explicativa: GRUPOS DE ESTUDIO					
Número de Casos: 18					
	Suma de Cuadrados	G.L.	Cuadrado Medio	F-valor	p-valor
Entre Grupos	4.3440	5	0.8688	4.8569	0.0117
Dentro Grupos	2.1465	12	0.1789		
Total (corr.)	6.4905	17			

## ANÁLISIS DE LOS RESULTADOS

En el gráfico se evidencia que los grupos G2 y G4 son los que presentan el menor número de defecaciones en tanto que los grupos G5, G3 y G1 presentan un comportamiento casi similar, en tanto que el grupo G6 presenta una dispersión que prácticamente abarcan todos los valores expresados en todos los grupos.

El P-valor observado es de 0.0117 con lo cual se rechaza la hipótesis nula y se acepta la alternativa estableciendo diferencias estadísticamente significativas entre los grupos de estudio.

Con el análisis post estadístico Tukey HSD al 95% de comparaciones múltiples (Cuadro No. 33), se define un grupo homogéneo conformado por los grupos G6, G3, G5 estableciendo un rango de bolas de heces alrededor de 1.77 el grupo G1 manifiesta el mayor número de bolas de heces mientras que los grupos G2 y G4 el menor de ellos.

La defecación y la micción son menudo usado como medidas de ansiedad, pero la validez de la defecación como una medida de la ansiedad ha sido cuestionada (Lister, 1990). Hall



(1934) describe la defecación y la micción como índices de ansiedad en roedores. Argumenta que el animal se habrá reducido en la locomoción un nuevo entorno, pero el sistema nervioso autónomo se activa, lo que hará aumentar la defecación en esta arena nociva. Sin embargo, Bindra y Thompson (1953) argumentan que no existe una relación significativa entre el temor y la micción y la defecación como medida en la prueba de campo abierto.

Los datos obtenidos en este análisis se compararon con un trabajo que utilizan esta prueba para evaluar un extracto de metanol y todas sus fracciones de *Passiflora actinia*, estudio en el que se concluye que sólo la fracción acuosa del extracto de metanol mostró actividad ansiolítica selectiva (30 mg/kg), presentando significativa actividad sedante en las pruebas de campo abierto. (DOS SANTOS, K. y otros. 2006)

### **3.7 DISCUSIÓN GENERAL DE RESULTADOS DE TODOS LOS ENSAYOS NEUROFARMACOLÓGICOS**

El extracto de *Passiflora quadrangularis* al 100% tuvo Actividad Miorelajante al provocarles incoordinaciones motoras a los ratones por sedación y relajamiento muscular en la prueba del alambre, también Actividad ansiolítica al existir una clara disminución de la ansiedad debido al mayor número de canicas enterradas, al aumento de tiempo en los cuadrantes abiertos del laberinto elevado cero, mayor tiempo que paso en el compartimiento claro de la caja luz-oscuridad y al mayor número de veces que cruzaron el cuadro central en la prueba de campo abierto. La actividad exploratoria y locomotora disminuyó al reducirse la deambulación por la periferia del campo abierto y es natural al encontrarse con sustancias ansiolíticas que les provocaron mayor sedación. La emocionalidad medida por el resto de factores analizados en el campo abierto como aseo, incorporaciones, micción tuvo el mismo accionar con el resto de los grupos, solo la defecación disminuyó al igual que el Control positivo químico (G2).

Los extractos de *Passiflora quadrangularis* al 65% y 30% también provocaron actividad ansiolítica pero con menos intensidad, evidenciándose un descenso proporcional entre estos dos extractos para los factores que se analizaron en la prueba del alambre, enterramiento de canicas y laberinto elevado cero. El extracto al 30% provocó mayor exploración en los ratones seguido del extracto al 65% por lo que tuvieron mayor locomoción comparados con los controles positivos utilizados.

## CONCLUSIONES

1. Los parámetros analizados a las flores de badea (*Passiflora quadrangularis*) de humedad (8.01%), cenizas totales (9.30%), cenizas solubles en agua (6.87%) y cenizas insolubles en ácido clorhídrico (4.12%), se encontraron dentro de los rangos establecidos en las NPT en su control de calidad.
2. Los resultados obtenidos en la determinación de las especificaciones del control de calidad del extracto fluido de flor de badea (*Passiflora quadrangularis*), indicaron que bajo las condiciones aplicadas, el extracto fue estable, lo cual como prueba de inocuidad, constituyó una garantía de calidad para el empleo terapéutico.
3. Se identificaron mediante tamizaje fitoquímico a los Compuestos grasos, Alcaloides, Flavonoides, Triterpenos, Taninos, Saponinas y Principios amargos como metabolitos secundarios presentes en la droga seca (*Passiflora quadrangularis*), mostrando una mayor evidencia de alcaloides y flavonoides, que al ser estudiados por cromatografía de capa fina se comprobó al alcaloide harmano y a los flavonoides isovitexina 2'-O-glucosido, isoorientina y la flavona-C-glicosilada como presumibles responsables de la actividad ansiolítica.
4. Se determinó la concentración de metabolitos secundarios mediante la cuantificación por espectrofotometría dándonos un valor de 0,35 mg/g/ml de flavonoides totales y un valor de 0.9323 mg/g/ml de alcaloides totales.
5. En prueba de alambre, enterramiento de canicas, laberinto elevado cero, de acuerdo a los gráficos No. 1, 2 y 3, según tratamiento estadístico (Anova y Tukey HSD 95%) empleado, el comportamiento de los grupos G4, G2 Y G3 corresponde a una depresión del SNC determinándose una actividad ansiolítica según los parámetros de evaluación

como tiempo de agarre, enterramiento de canicas y tiempo en cuadrantes abiertos respectivamente.

6. Según los factores de evaluación en la prueba de caja luz oscuridad existió mayor permanencia en la zona clara los grupos G2, G3, G4 indicando relajación al disminuir su ansiedad y miedo por los espacios claros. Con respecto a la locomoción evaluada por el número de líneas cruzadas en el espacio claro y oscuro de la caja, no existió estadísticamente diferencia alguna por ser grupos homogéneos, es decir, no hubo efecto en estos parámetros talvez por ser organismos de autonomía diferente.
7. En la prueba del Campo abierto, se evidenció disminución de la ansiedad en los grupos G2, G4 y G3 por el mayor número de entradas en el cuadro central. La deambulación fue menor en el G4, es decir, hubo menos actividad exploratoria y locomotora por parte de este grupo. La emocionalidad medida por el número de incorporaciones, aseo, micción que presenta el animal parece ser igual para todos los grupos al considerarlos estadísticamente grupos homogéneos a pesar de existir diferencias entre ellos, y la defecación que es menor en los grupos G2 y G4 por presentar mayor efecto ansiolítico.
8. Se logró comprobar la actividad ansiolítica de la flores de badea (*Passiflora quadrangularis*) con mayor efectividad en el extracto al 100% (G4) comparados con los dos controles positivos utilizados y a pesar que los extractos al 65% (G5) y 30% (G6) tuvieron poca actividad farmacológica que estadísticamente no son aceptables.

## RECOMENDACIONES

1. Repetir este estudio utilizando como materia prima flores de badea provenientes de una zona geográfica diferente, tomando en cuenta que la composición química puede variar en concentración y por ende aumentar su actividad neurofarmacológica.
2. Utilizar las concentraciones obtenidas en la cuantificación de los metabolitos responsables de la actividad farmacológica para realizar una forma farmacéutica y así continuar con el estudio de *Passiflora quadrangularis* usando resultados de la presente investigación obtenidos en modelos animales que es la primera fase (Fase preclínica) como parte de la información que se requiere para avanzar a la siguiente (fase clínica) para determinar la eficacia en humanos.
3. Indagar y realizar estudios de otras especies de *Passiflora* que se localizan en nuestro país para encontrar efecto farmacológico en todas las partes de la planta y no solo en las flores, comprobando su actividad con diferentes ensayos neurofarmacológicos para la medición de la ansiedad, además de los realizados en este estudio.
4. Realizar menos ensayos neurofarmacológicos para evitar cansancio en los ratones que pueden generar medidas ambiguas, o a la vez, formar más grupos y dividir el número de pruebas.
5. Utilizar en el estudio preclínico animales del mismo sexo debido a que se evidenció una mayor actividad en hembras.

## BIBLIOGRAFÍA

- **ARONSON, J. (2009).** Meyler's side effects of Psychiatric Drugs. Amsterdam. Elsevier. Pp. 449-450
- **BIRK, C. (2005).** TLC de la huella digital de flavonoides y saponinas de *Passiflora* Especies. Revista de Cromatografía Líquida y Tecnologías relacionadas. Vol. 28. Núm. 14. (Brasil). pp. 2285-2291
- **BONILLA, J. (2013).** Determinación de la toxicidad, actividad sedante y ansiolítica del extracto acuoso de las flores de *Erythrina berteroana* (PITO) en ratones NIH. (Tesis) (Lic. Quím. y Farm.). Universidad de el Salvador. Facultad de Química y Farmacia. El Salvador. pp. 81-97
- **BROWN, R. y otros. (2013).** Anxiety, exploratory behavior, and motor activity in 14 inbred strains of mice. Mouse Fenome Database the Jackson Laboratory. Vol. 43. Núm. 1. (California). pp. 34-50
- **CAICEDO, V. y otros. (2011).** Prevalencia del trastorno de ansiedad y factores asociados en adolescentes de los colegios de la parroquia El Vecino de la ciudad de Cuenca, 2011. (Tesis) (Médico), Universidad de Cuenca. Ecuador. pp. 10-22
- **CARVAJAL, L. y otros. (2011).** Algunas especies de *Passiflora* y su capacidad antioxidante. Revista Cubana de Plantas Medicinales. Vol. 16. Núm. 4. (Cuba).
- **COOPER, E. y YAMAGUCHI, N. (2004).** Complementary and alternative approaches to biomedicine. 5a ed. Kanazawa-shi Japán. Springer Science. pp. 180-189

- **DELGADO, F.** Ansiedad y ataques de pánico.  
<http://institutoneurociencias.med.ec/guia-salud-mental/item/-trastornos-de-ansiedad>  
2014-08-22
- **DENG, J. (2010).** Actividades ansiolíticos y sedantes de *Passiflora edulis f. flavicarpa*. Diario de Etnofarmacología. Vol. 128. Núm. 1. (China). pp. 148-153
- **DOS SANTOS, K. y otros. (2006).** Sedative and anxiolytic effects of methanolic extract from the leaves of *Passiflora actinia*. Brazilian Archives of Biology and Technology. Vol. 49. Núm. 4. (Brasil).
- **DUQUE, C. y MORALES, A. (2005).** El aroma frutal de Colombia. Ilustrada ed. Colombia. pp. 107-130.
- **ESTRADA, R. y otros. (2012).** Los flavonoides y el Sistema Nervioso Central. Salud Mental. Vol. 35. Núm. 5. (México).
- **FALCÓN, F.** Plantas medicinales en el tratamiento de la ansiedad.  
<http://www.clinicadeansiedad.com/02/227/Plantas-medicinales-en-el-tratamiento-de-la-ansiedad.htm>  
2014-09-07
- **GARCÍA, C. y otros. (2009).** Metabolitos secundarios en los extractos secos de *Passiflora incarnata* L., *Matricaria recutita* L. y *Morinda citrifolia* L. Revista Cubana de Plantas Medicinales. Vol. 14. Núm. 2. (Cuba). pp. 2285-2291
- **GÓMEZ, H. (2013)** Neurofisiología, Clínica y Tratamiento de los Trastornos de Ansiedad.  
[http://cuartasingularidad.com/events/libro\\_trastorno\\_de\\_ansiedad.pdf](http://cuartasingularidad.com/events/libro_trastorno_de_ansiedad.pdf)  
2014-08-29

- **HOLLANDER, E. y SIMEON, D. (2004).** Guía de Trastornos de ansiedad. Madrid-España. Elsevier. pp. 1-44
- **INGALE, A. y HIVRALE, A. (2010).** Pharmacological studies of *Passiflora* sp. And their bioactive compounds. African Journal of Plant Science. Vol. 4. Núm. 10. (India). pp. 417-426
- **INSOMNIUM 7,5 ZOPLICLONA 5mg.**  
<http://www.gador.com/np/vademecum/pdf/insomnium.pdf>  
2014-08-29
- **KAMALDEEP, D. y otros. (2001).** Actividad ansiolítica de partes aéreas y subterráneas de *Passiflora incarnata*. Fitoterapia. Vol. 72. Núm. 8. (s.l.) pp. 922-926
- **KAMENETZKY, G. (2011).** Correlación entre Miedo Incondicionada y la Primera Reacción a la Disminución y Extinción de un Reforzador Apetitivo. Acta de investigación Psicológica. Vol. 1. Núm. 1. (Buenos Aires). pp. 92.107
- **KINTANA, D. y otros. (2007).** Efecto del D-004 sobre patrones conductuales en roedores. Revista CENIC Ciencias Biológicas. Vol. 38. Núm.1. (Cuba). pp. 1-7
- **KOLE, C. (2011).** Wild Crop Relatives: Genomic and Breeding Resources. Tropical and Subtropical Fruits. New York. Springer Heidelberg. pp. 136-161
- **KUMAR, S. (2002).** Comparada actividad ansiolítica Perfil de diversas preparaciones de *Passiflora incarnata* Linneaus: Un comentario sobre normalización Plantas medicinales. El Diario de la Medicina Alternativa y Complementaria. Vol. 8. Núm. 3. (India). pp. 283-291



- **LADER, M. y otros. (2009).** Sleep and Sleep Disorders: A Neuropsychopharmacological Approach. New York. Springer Landes Bioscience. pp. 297-301
- **LARA, A. (2005).** Los Trastornos de Ansiedad. Revista Digital universitaria. Vol. 6. Núm. 11. (México). pp. 2-10
- **LEON, J. (2000).** Botánica de los cultivos Tropicales. 3ª ed. San José - Costa Rica. Editorial IICA. pp. 138-139
- **LIM, T. (2012).** Edible Medicinal And Non-Medicinal Plants. 4ta ed. New York. Springer. pp. 183-186
- **LOCK, O. (1994).** Investigación Fitoquímica. Métodos en el estudio de productos naturales. 2ª ed. Perú. Fondo Editorial. 298 p.
- **LOZANO, A. (2013).** Presencia de ansiedad, depresión y trastornos psicosomáticos en pacientes que acuden a servicio de atención médica primaria de un consultorio privado de la ciudad de Quito. (Tesis) (Psicólogo Clínico). Universidad de las Américas. Facultad de Ciencias Sociales. Ecuador. pp. 20-31
- **MARDOMINGO, M. (1994).** Psiquiatría del niño y del adolescente. Ilustrada ed. Madrid- España. Ediciones Díaz de Santos. pp. 281-297
- **MÉXICO, CENTRO NACIONAL DE EXCELENCIA TECNOLÓGICA EN SALUD. (2010).** Guía de Práctica Clínica. Diagnóstico y Tratamiento de los Trastornos de Ansiedad en el Adulto. México. p. 61

- **MIRANDA, M. (2000).** Farmacognosia y Productos naturales. Cuba. Habana. S.E. pp. 30-65
- **MOMOX, L.** Importancia, beneficios y ética de la experimentación animal. BUAP <http://experimentaciondhtic.blogspot.com/2011/12/importancia-beneficios-y-etica-de-la.html>  
2014-09-05
- **MONTI, J. (2010).** GABA and Sleep. Molecular, Functional and Clinical Aspects. Canadá. Springer Science y Business media. pp.414-123
- **MONTI, J. y otros. (2010).** Principles and Practice of Geriatric Sleep Medicine. Ilustrada ed. New York. Cambridge. pp. 374-375
- **MSP Y BIENESTAR SOCIAL. (2013).** Cuadros depresivos y trastornos de ansiedad, motivos de mayor consulta. Paraguay.  
<http://www.mspbs.gov.py/v2/19646-Cuadros-depresivos-y-trastornos-de-ansiedad-motivos-de-mayor-consulta>  
2014-08-22
- **NARANJO, K. Y SALAZAR, J. (2012).** Comparación del nivel de ansiedad en los pacientes de cirugía programada mediante la aplicación de la escala de ansiedad e información preoperatoria de amsterdam realizada en la visita pre anestésica y comparada con grupo control en los hospitales Eugenio Espejo y clínicas Pichincha. (Tesis) (Especialistas en anestesiología). Universidad Central del Ecuador. Facultad de Ciencias Médicas. Ecuador. pp. 8-19
- **NASSIRI, M. y otros. (2007).** Anticonvulsant effects of aerial parts of *Passiflora incarnate* extract in mice: involvement of benzodiazepine and opioid receptors. Complementary and Alternative Medicine. Vol. 10. Núm. 1. (Irán). pp. 7-26

- **OMS. OPS. y CICAD. (2005).** Neurociencia del Consumo y Dependencia de Sustancias Psicoactivas.
- **OPS, OMS (2005).** Incrementaran notablemente los trastornos mentales en América Latina y Caribe. Estados Unidos.  
[http://www.paho.org/bol/index.php?option=com\\_content&view=article&id=576&catid=667:notas-de-prensa](http://www.paho.org/bol/index.php?option=com_content&view=article&id=576&catid=667:notas-de-prensa)  
2014-08-23
- **ORGANIZACIÓN MUNDIAL DE LA SALUD. (2006).** Prevención del suicidio un instrumento en el trabajo.  
[http://www.who.int/mental\\_health/prevention/suicide/resource\\_work\\_spanish.pdf?ua=1](http://www.who.int/mental_health/prevention/suicide/resource_work_spanish.pdf?ua=1)  
2014-08-23
- **OSPINA, A. (2010).** Fraccionamiento bioguiado anticonvulsivante del extracto etanólico de las hojas de *Cecropia peltata* (YARUMO). (Tesis) (Magíster en Ciencias Farmacéuticas). Departamento de farmacia. Facultad de Ciencias. Bogotá. Pp. 26-33
- **PALLO, M. (2012).** Evaluación del efecto ansiolítico del extracto hidroalcohólico de flor de granadilla (*Passiflora ligularis*) en ratones (*Mus musculus*). (Tesis) (Bioq. Farm). Escuela Superior Politécnica de Chimborazo. Facultad de Ciencias. Escuela de Bioquímica y Farmacia. Riobamba-Ecuador. 136 p
- **PARIS, F. y otros. (2002).** Pharmacochemical Study of Aqueous Extracts of *Passiflora alata* Dryander and *Passiflora edulis* Sims. Acta Farm. Bonaerense. Vol. 21. Núm. 1. (Brasil). pp. 5-8

- **PASTRANA, J.** Guía de ayuda a pacientes y familiares. Trastornos de Ansiedad y Estrés.  
<http://www.feafes.org/publicaciones/Trastornosansiedadestres.pdf>  
2014-09-01
- **PATEL, S. y otros. (2010).** *Passiflora incarnata* Linn: A phytopharmacological review. International Journal of Green Pharmacy. Vol. 3. Núm. 4. (India). pp. 227-280
- **PATEL, S. y otros. (2011).** Recent updates on the genus *Passiflora*: A review. Pharmacol Vol. 1. Núm. 1. (India). pp. 1-16
- **PEÑA, J. (2013).** Estudio de pre factibilidad para la producción de badea (*Passiflora quadrangularis*) en el cantón Arenillas. (Tesis) (Ec. Agr.). Universidad Técnica de Machala. Facultad de Ciencias Agropecuarias. Ecuador. pp. 3-19
- **PEREIRA, C. y VILEGAS, J. (2000).** Constituintes Químicos e Farmacología do Género *Passiflora* com Ênfase a *P. alata* Dryander., *P. edulis* Sims e *P. incarnata* L. Botucatu. Vol. 3. Núm. 1. (Brasil) pp. 1-12
- **PÉREZ, R.** Los trastornos de la ansiedad, como problema masivo del mundo actual y la búsqueda de programas terapéuticos específicos. Cuba.  
<http://psicopediahoy.com/trastornos-de-la-ansiedad-programas-terapeuticos/>  
2014-08-09
- **PIERCE, B. (2009).** Genética: un enfoque conceptual. 3ra ed. Madrid- España. Editorial Médica Panamericana. pp-533-535

- **POLANCO, L. (2011).** Modelos Animales: Una revisión desde tres pruebas utilizadas en Ansiedad. *Suma Psicológica*. Vol.18. Núm. 2. (Colombia). pp. 141-148
- **PUCHOL, D.** Los trastornos de ansiedad: la epidemia silenciosa del siglo XXI. Valencia.  
<http://www.psicologiaincientifica.com/trastornos-de-ansiedad-epidemia>  
2014-08-19
- **REJÓN, J. y otros. (2011).** Pruebas no condicionadas en ratones para evaluar la actividad ansiolítica de sustancias extraídas de plantas. *Univ. Méd. Bogotá*. Vol. 52. Núm. 1. (Colombia). pp. 78-89
- **REYES, A. (2010).** Trastornos de ansiedad guía práctica para diagnóstico y tratamiento. Honduras. p. 134
- **REYES, A.** Trastornos de Ansiedad. Guía práctica para diagnóstico y tratamiento.  
<http://www.bvs.hn/Honduras/pdf/TrastornoAnsiedad.pdf>  
2014-09-01
- **RIOFRÍO, K. (2014).** Evaluación del efecto ansiolítico del extracto hidroalcohólico de flor de taxo (*Passiflora tripartita* var. *Mollissima*) en ratones (*Mus musculus*). (Tesis) (Bioq. Farm). Escuela Superior Politécnica de Chimborazo. Facultad de Ciencias. Escuela de Bioquímica y Farmacia. Riobamba-Ecuador. 145 p
- **RODRÍGUEZ, E. (2007).** Ética de la investigación en modelos animales de enfermedades Humanas. *Acta bioethica*. Vol. 13. Núm. 1. (Chile).

- **RODRÍGUEZ, J. y CONTRERAS, C. (1998).** Algunos datos recientes sobre la Fisiopatología de los trastornos por ansiedad. Rev. Biomed. Vol. 9. Núm. 1. (México). pp. 181-191
- **ROJAS, J. y DÍAZ, D. (2009).** Evaluación de la toxicidad del extracto metanólico de hojas de *Passiflora edulis* Sims (maracuyá), en ratas. Anales de la Facultad de Medicina. Vol. 70. Núm. 3. (Perú).
- **ROJAS, J. y otros. (2006).** Efecto antihipertensivo y dosis letal 50 del jugo del fruto y del extracto etanólico de las hojas de *Passiflora edulis* (maracuyá), en ratas. Anales de la Facultad de Medicina. Vol. 67. Núm. 3. (Perú).
- **RUBIN, M. y otros. (2000).** Anxiolytic-like effects of 4-phenyl-2-trichloromethyl-3H-1,5-benzodiazepine hydrogen sulfate in mice. Brazilian Journal of Medical and Biological Research. Vol. 33. Núm. 9. (Brasil).
- **SANTOSH, P. y otros. (2011).** Antidepressant activity of methanolic extract of *Passiflora foetida* leaves in mice. International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences. Vol. 3. Núm. 1. (India) pp. 112-115
- **SHARAPIN, N. (2000).** Fundamentos de tecnología de productos fitoterapéuticos. Bogotá. Quebecor-Impreandes. 247p.
- **SOLLOZO, M. y otros. (2011).** Medicina tradicional: estudios preclínicos de plantas con propiedades ansiolíticas. El Residente. Vol. 6. Núm. 2. (México). pp. 78-84
- **SOULIMANI, R. (1997).** Efectos sobre la conducta de *Passiflora incarnata* L. y su alcaloide indol y derivados de flavonoides y maltol en el ratón. Diario de Etnofarmacología. Vol. 57. Núm. 1. (Francia). pp. 11-20

- **SPINELLA, M. (2001).** The Psychopharmacology of Herbal Medicine. Estados Unidos. QuarkXPress. pp. 211-232
- **TABACH, R. y otros. (2009).** Pharmacological evaluation of a phytotherapeutic product – CPV (dry extract of *Crataegus oxyacantha* L., *Passiflora incarnata* L. and *Valeriana officinalis* L.) in laboratory animals. Revista Brasileira de Farmacognosia. Vol. 19. Núm. 1. (Brasil).
- **VICENTE, M. y otros. (2013).** Evolución del uso de medicamentos ansiolíticos e hipnóticos en España durante el período 2000-2011. Salud Pública. Vol. 87. Núm. 1. (España). pp. 247-255
- **WAGNER, H. (1996).** Plant drug analysis. 2da ed. Berlin-Germany. Springer Verlag Berlin Heidelberg. pp. 169.
- **WATSON, R. y PREEDY, V. (2008).** Botanical Medicine in Clinical Practice. Ilustrada ed. New York. CABI. pp. 761-765
- **WESZ, M. y otros. (2010).** Search for alkaloids on callus culture of *Passiflora alata*. Barazilian Archives of Biology and Technology. Vol. 53. Núm. 4. (Brasil).
- **WOLFMAN, C. y otros. (1994).** Posibles efectos ansiolíticos de crisina, un ligando el centro receptor de benzodiacepina aislados de *Passiflora coerulea*. Farmacología bioquímica y Comportamiento. Vol. 47. Núm. 1. s.l. pp. 1-4
- **ZOPICLONA.**  
<http://www.eutimia.com/psicofarmacos/hipnoticos/zopiclona.htm>  
2014-08-29

## ANEXOS

### ANEXO No. 1. CONTROL DE CALIDAD DE LA DROGA SECA Y PULVERIZADA DE *Passiflora quadrangularis*.

---



**Determinación de humedad**

---



**Determinación de cenizas**

---



**ANEXO No. 2. CONTROL DE CALIDAD DEL EXTRACTO FLUIDO DE FLOR DE BADEA (*Passiflora quadrangularis*)**

---



**Determinación del pH**



**Determinación de densidad relativa**



**Determinación del índice de refracción**



**Determinación de sólidos totales**

**ANEXO No. 3. TAMIZAJE FITOQUÍMICO DEL EXTRACTO DE FLOR DE BADEA (*Passiflora quadrangularis*)**

---



**Preparación de extractos**



**Extractos**



**Ensayo de Sudan**



**Ensayo de Dragendorff**



**Ensayo de Wagner**



**Ensayo de Mayer**



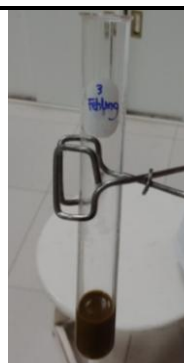
**Ensayo de Baljet**



**Ensayo de Liberman-Buchard**



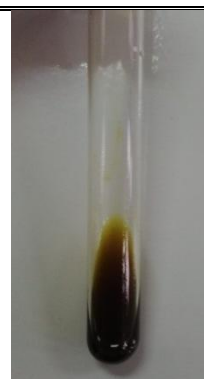
**Ensayo de Resinas**



**Ensayo de Fehling**



**Ensayo de Espuma**



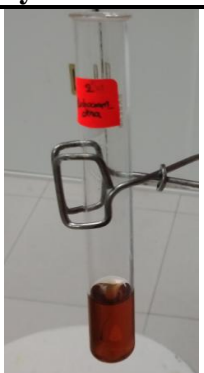
**Ensayo de  $\text{Cl}_3\text{Fe}$**



**Ensayo de Borntrager**



**Ensayo de Shinoda**

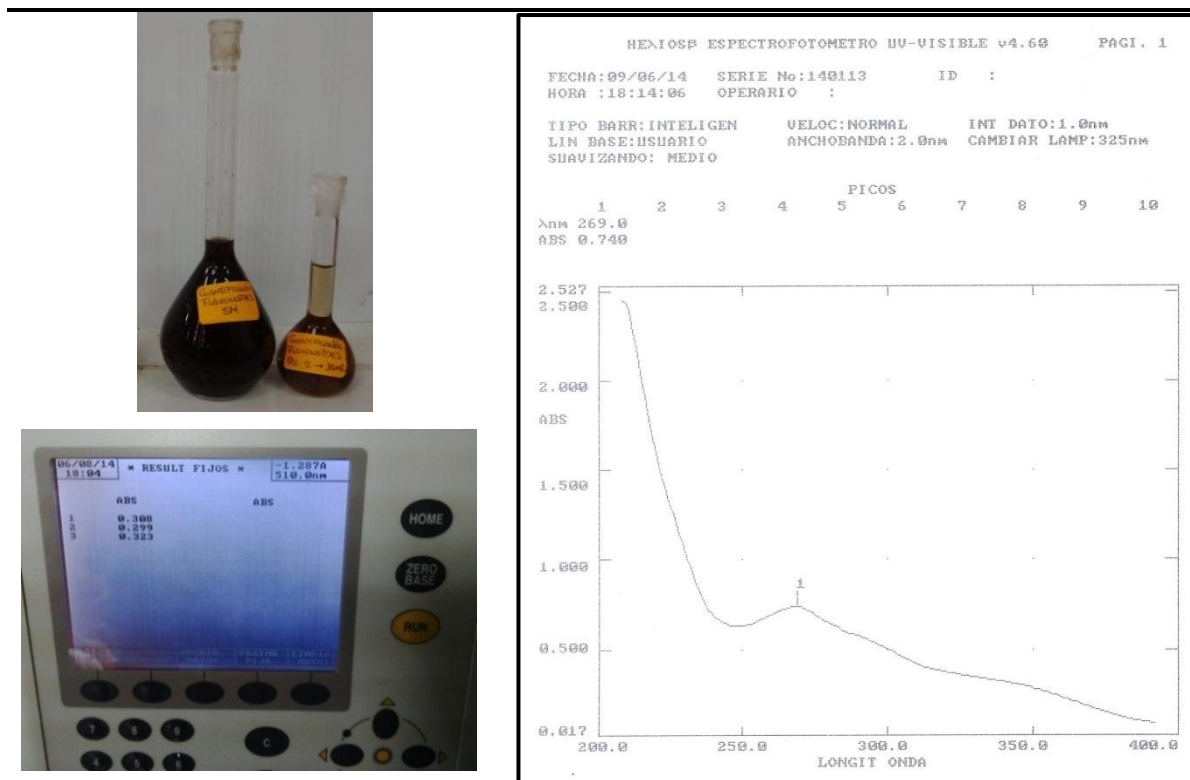


**Ensayo de Antocianidinas**



**Ensayo de Mucílagos**

# **ANEXO No. 4. CUANTIFICACIÓN DE PRINCIPIOS ACTIVOS DE FLOR DE BADEA (*Passiflora quadrangularis*) POR ESPECTROFOTOMETRÍA.**

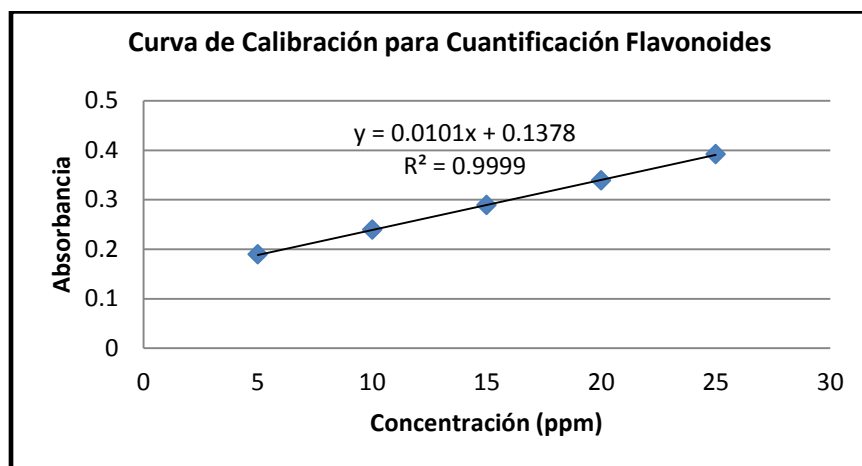


## **Alcaloides**



## **Flavonoides**

**Anexo No. 5. CURVA DE CALIBRACIÓN DE RUTINA PARA CUANTIFICACIÓN DE FLAVONOIDES EN CONCENTRACIONES DE 20, 40, 60 Y 100 ppm. LABORATORIO DE INSTRUMENTAL. FACULTAD DE CIENCIAS. ESPOCH. JULIO 2014**



**ANEXO No. 6. MANIPULACIÓN Y ADMINISTRACIÓN A RATONES (*Mus musculus*)**



**Suministro de alimento y agua**



**Control de Peso**



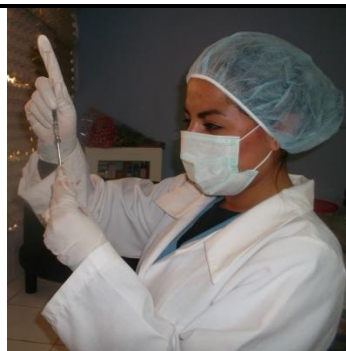
**Formación de grupos para el bioensayo**



**Controles Positivos Químico y Natural**



**Manipulación**



**Administración**